

**PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI  
MIKROALGA *Porphyridium cruentum* DAN *Chlorella* sp.**

**SKRIPSI**

**Disusun untuk Melengkapi Syarat-Syarat  
Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains**



**MONIKA RAFAELINA  
3425102451**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI  
JURUSAN BIOLOGI**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA**

**2015**

## ABSTRAK

MONIKA RAFAELINA. **Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.** Skripsi. Jakarta: Program Studi Biologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta. 2015.

Biomassa mikroalga mengandung komponen kimia seperti vitamin, protein, asam lemak tak jenuh ganda  $\omega$ -3 dan  $\omega$ -6, serta pigmen. Komponen dengan aktivitas antioksidan dapat ditemukan hanya pada beberapa spesies alga. Jenis mikroalga yang potensial memiliki senyawa kimia yang berfungsi sebagai antioksidan adalah *Porphyridium cruentum*, dan *Chlorella* sp. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pertumbuhan dan aktivitas antioksidan dari *P.cruentum* dan *Chlorella* sp. dengan perlakuan kultur yang berbeda. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan rancangan acak lengkap. Aktivitas antioksidan (nilai  $IC_{50}$ ) diukur dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Data dianalisis dengan SPSS 16.0 menggunakan *General Linier Model (GLM) Univariate*. Hasil uji GLM *Univariate* pada parameter kepadatan sel menunjukkan bahwa terdapat perbedaan kepadatan sel pada faktor jenis ( $p= 0,000$ ), tetapi tidak terdapat perbedaan kepadatan sel pada faktor kultivasi ( $p= 0,375$ ) dan hasil uji GLM *Univariate* pada parameter aktivitas antioksidan menunjukkan tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada faktor jenis ( $p= 0,522$ ) tetapi terdapat perbedaan pada faktor kultivasi ( $p= 0,001$ ). Terdapat perbedaan pertumbuhan pada *P.cruentum* dan *Chlorella* sp. tetapi tidak terdapat perbedaan pertumbuhan baik yang dikultivasi di dalam dan di luar ruangan, serta tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada kedua spesies namun terdapat perbedaan aktivitas antioksidan yang dikultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan.

**Kata kunci:** pertumbuhan, aktivitas antioksidan, *Porphyridium cruentum*, *Chlorella* sp, kultivasi dalam ruangan, kultivasi luar ruangan

## ABSTRACT

MONIKA RAFAELINA. **Growth and Antioxidant Activity of Microalgae *Porphyridium cruentum* and *Chlorella* sp.** Undergraduated Thesis. Jakarta: Departement of Biology, Faculty of Mathematic and Natural Science. State University of Jakarta. 2015.

Microalgae biomass contains chemical components such as vitamin, proteins,  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 polyunsaturated fatty acid and pigments. Components with antioxidant activities can be found in only a few species of algae. The potential species of microalgae who have compounds act as antioxidant are *Porphyridium cruentum* and *Chlorella* sp. This study aimed to know the growth and antioxidant activity of *P.cruentum* and *Chlorella* sp. with the treatment of different cultures. Experimental method and completely randomized design was used as the research method. Antioxidant activity (IC<sub>50</sub> value) was measured by DPPH method (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil). SPSS 16.0 is used to analyze the data with General Linier Model (GLM) Univariate. The results of GLM Univariate test for cell density showed that there was significant different for cell density in species factors ( $p= 0,000$ ), but there was no significant different for cell density in culture factors ( $p= 0,375$ ), and GLM Univariate test for antioxidant activity showed that no significant different for antioxidant activity in species factors ( $p= 0,522$ ) but significant different for antioxidant activity in culture factors ( $p= 0,001$ ). There was significant different for growth in *P. cruentum* and *Chlorella* sp. but no significant different in indoor and outdoor culture, as well as there was no significant different antioxidant activity in two species but significant different in indoor and outdoor culture.

**Keywords:** growth, antioxidant activity, *Porphyridium cruentum*, *Chlorella* sp, indoor cultivation, outdoor cultivation

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan yang Maha Esa, karena berkat rahmat dan kasih-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini, yang merupakan hasil penelitian yang dilaksanakan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Judul skripsi yang disusun oleh penulis "***Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga Porphyridium cruentum dan Chlorella sp.***" merupakan salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Sains Universitas Negeri Jakarta.

Tidak sedikit hambatan dan kesulitan yang dihadapi untuk menyelesaikan skripsi ini dan Puji Tuhan penulis dapat lalui hingga selesai. Penulis menyadari bahwa semua ini tidak terlepas dari bimbingan dan bantuan berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih serta hormat kepada:

1. Dra. Yoswita Rustam, M.Si., selaku dosen pembimbing I yang telah memberikan waktu, tenaga, saran, pengarahan dan bimbingan agar skripsi menjadi lebih bermanfaat.
2. Sri Amini, M.Sc., selaku dosen pembimbing II yang juga telah memberikan waktu, tenaga, saran, dan nasehat sehingga penulis bisa menyelesaikan skripsi ini dengan lebih baik.
3. Dr. Adisyahputra, M.S, selaku dosen penguji I yang telah banyak memberikan masukan, kritik dan arahan untuk membangun kesempurnaan skripsi ini.

4. Dra. Tri Handayani K, M.Si., selaku dosen penguji II yang juga telah banyak memberikan masukan, kritik dan arahan untuk membangun kesempurnaan skripsi ini.
5. Drs. M. Nurdin Martondang S, M.Si., selaku Ketua Jurusan Biologi, FMIPA UNJ.
6. Eka Putri Azrai, S.Pd., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi atas segala arahan yang diberikan.
7. Seluruh dosen Jurusan Biologi UNJ yang telah banyak memberikan ilmu selama dalam masa perkuliahan.
8. Ibu Diini Fitriani, M.Si., yang senantiasa memberi bimbingan selama penelitian.
9. Seluruh staf Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan.
10. Bapak Tomi yang selalu membantu selama penelitian.
11. Kedua orang tua dan kakak yang selalu memberikan doa serta dukungan moril maupun materil.
12. Abang thamrin yang selalu memberikan waktu, motivasi, dukungan, senyuman, doa dan selalu sedia menjadi tempat berkeluh kesah.
13. Musdalifah yang telah menjadi teman seperjuangan dalam penelitian, dan menjadi tempat berbagi ilmu.
14. Rekan-rekan Prodi Biologi 2010 yaitu Intan P.S, Fitri, Nurliya, Resha, Aulia, Puspita, Intan. M, Irfan, Nadia, Nisa, Wina, Indah, Syifa, Pidi, Heni, Tiwi, Ardi, Juliadi, Andes, Faisal, dan Dhani.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun di kemudian hari. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak yang berkesempatan membaca skripsi ini.

Jakarta, Januari 2015

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>ABSTRAK</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	iii
<b>DAFTAR ISI</b> .....	vi
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	viii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	ix
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	x
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang .....	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	4
D. Manfaat Penelitian.....	4
<b>BAB II KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR, DAN PERUMUSAN HIPOTESIS</b>	
A. Kajian Pustaka.....	5
1. Mikroalga .....	5
2. Fase Pertumbuhan Mikroalga .....	6
3. <i>Porphyridium cruentum</i> .....	7
4. <i>Chlorella</i> sp. ....	11
5. Antioksidan.....	14
6. Manfaat Mikroalga .....	20
B. Kerangka Berpikir .....	21
C. Hipotesis Penelitian.....	22
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN</b>	
A. Tujuan Operasional .....	23
B. Tempat dan Waktu Penelitian.....	23
C. Metode Penelitian.....	23
D. Prosedur Penelitian .....	24
1. Alat dan Bahan .....	24
2. Pelaksanaan Percobaan .....	25
E. Hipotesis Statistik .....	30
F. Teknik Analisis Data .....	31

<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
A. Hasil .....	33
1. Pertumbuhan Sel Mikroalga .....	33
a. Pertumbuhan Kepadatan Sel Mikroalga <i>Porphyridium</i> <i>cruentum</i> dan <i>Chlorella</i> sp.....	33
b. Pengukuran Parameter Lingkungan pada Media selama Kultivasi.....	34
2. Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i> dan <i>Chlorella</i> sp.....	36
3. Uji Hipotesis .....	38
B. Pembahasan .....	39
1. Pertumbuhan Sel Mikroalga .....	39
a. Pertumbuhan Kepadatan Sel Mikroalga <i>Porphyridium</i> <i>cruentum</i> dan <i>Chlorella</i> sp.....	39
b. Pengukuran Parameter Lingkungan pada Media selama Kultivasi.....	41
2. Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i> dan <i>Chlorella</i> sp.....	45
 <b>BAB V KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN</b>	
A. Kesimpulan.....	52
B. Implikasi .....	52
C. Saran.....	53
 <b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	54
<b>LAMPIRAN</b> .....	61
<b>SURAT IZIN PENELITIAN</b> .....	77
<b>SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI</b> .....	78
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	79



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Grafik Pola Pertumbuhan Sel Alga .....	7
Gambar 2. Sel <i>Porphyridium cruentum</i> .....	9
Gambar 3. Sel <i>Chlorella</i> sp.....	12
Gambar 4. Desain Penelitian Kultivasi Mikroalga .....	24
Gambar 5. Diagram Alir Penelitian.....	32
Gambar 6. Pertumbuhan Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i> dan <i>Chlorella</i> sp. ....	34
Gambar 7. Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas.....	46

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Angka Kecukupan Gizi (AKG) untuk Vitamin dan Mineral .....	17
Tabel 2. Parameter Lingkungan Kultivasi Mikroalga .....	35
Tabel 3. Nilai IC <sub>50</sub> Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal DPPH .....	37
Tabel 4. Hasil uji statistik menggunakan GLM <i>Univariate</i> .....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Data Pertumbuhan Sel Mikroalga.....	61
Lampiran 2. Data Absorbansi Ekstrak Mikroalga dan Vitamin C.....	65
Lampiran 3. Grafik IC <sub>50</sub> Ekstrak Etanol Mikroalga dan Vitamin C....	67
Lampiran 4. Hasil Perhitungan SPSS.....	70
Lampiran 5. Foto Alat, Bahan, dan Kegiatan Penelitian.....	73

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Mikroalga merupakan organisme mikroskopis yang memiliki kemampuan fotosintesis sangat efisien (Ahmad dan Ahmad, 1994). Mikroalga bersifat sebagai fitoplankton yang bertindak sebagai penyusun metabolit sekunder. Mikroalga merupakan salah satu fitoplankton yang paling menarik di bidang bioteknologi kelautan karena menjadi sumber yang berharga dari berbagai produk alami yang dimiliki (El Nabris, 2012).

Kandungan makromolekul dalam biomassa mikroalga telah banyak diteliti dan dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif (Sheehan *et al.*, 1998), pengganti bahan bakar fosil, seperti biodiesel dari lipid (Nurachman *et al.*, 2012) dan bioetanol (Huang *et al.*, 2010). Menurut Abu-Rezq *et al.* (2010), biomassa mikroalga kaya nutrisi antara lain asam lemak omega 3 dan 6, asam amino esensial (Ile, isoleusin, dan valin), karoten, klorofil, serta vitamin. Beberapa jenis mikroalga juga memiliki kandungan protein tinggi.

Mikroalga memiliki komponen aktif yang dimanfaatkan dalam bidang industri pangan, kosmetik, dan farmasi. Komponen aktif fitoplankton antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida. Menurut Marxen *et al.* (2007), komponen aktif pada biomassa mikroalga diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Goiris *et al.* (2012) mengatakan bahwa

diyakini mikroalga uniseluler merupakan sumber alternatif antioksidan yang menjanjikan.

Jenis mikroalga yang potensial menghasilkan senyawa kimia yang berfungsi sebagai antioksidan adalah *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. *Porphyridium cruentum* diketahui mengandung karotenoid yaitu cis-zeaxantin, trans-zeaxantin,  $\alpha$ -karoten, dan cis  $\alpha$ -karoten (Abidin, 2010). Menurut Fretes *et al.* (2012), *Chlorella* sp. diketahui sebagai mikroalga penghasil beberapa jenis karotenoid seperti  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, lutein, zeaxantin, anteraxantin, dan violaxantin.

Terkait dengan tingginya permintaan untuk memenuhi manfaat tersebut, maka kultivasi merupakan cara untuk memenuhi kebutuhan stok biomassa mikroalga. Proses kultivasi melibatkan faktor lingkungan. Faktor lingkungan saat kultivasi mempengaruhi pertumbuhan. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga diantaranya suhu, salinitas, dan cahaya. Suhu merupakan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap proses metabolisme dan fotosintesis. Salinitas sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmotik antara sel dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Peranan cahaya dalam pertumbuhan yaitu untuk proses fotosintesis dengan menyediakan energi untuk diubah menjadi energi kimia dengan bantuan klorofil.

Kondisi lingkungan saat kultivasi tidak hanya berpengaruh terhadap pertumbuhan sel tetapi juga berpengaruh terhadap kestabilan dari senyawa antioksidan mikroalga. Kestabilan antioksidan yang terganggu

juga akan berpengaruh terhadap aktivitas dalam mengatasi radikal bebas. Pemanfaatan biomassa sebagai sumber metabolit sekunder yang diyakini memiliki aktivitas antioksidan pun perlu memperhatikan masa panen kultivasi berdasarkan fase pertumbuhan sel mikroalga. Pemanenan biomassa mikroalga dilakukan ketika pertumbuhan sel mencapai fase konstan.

Mengingat proses kultivasi untuk mendapatkan biomassa melibatkan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan senyawa antioksidan, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pertumbuhan sel serta aktivitas antioksidan dari mikroalga. Penelitian ini dilakukan pada jenis mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. dengan perlakuan kultivasi yang berbeda yaitu di dalam ruangan dan di luar ruangan. Pertumbuhan mikroalga berdasarkan kepadatan sel pada setiap volume kultur dan laju pertumbuhan serta aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai  $IC_{50}$ .

## **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah terdapat perbedaan pertumbuhan pada mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.?
2. Apakah terdapat perbedaan pertumbuhan pada mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan?

3. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.?
4. Apakah terdapat perbedaan aktivitas antioksidan mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui perbedaan pertumbuhan antara mikroalga jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.
2. Mengetahui perbedaan pertumbuhan kedua jenis mikroalga yang dikultivasi di dalam dan di luar ruangan.
3. Mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan antara mikroalga jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp..
4. Mengetahui perbedaan aktivitas antioksidan kedua jenis mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan.

### **D. Manfaat Penelitian**

1. Memberikan informasi mengenai pertumbuhan dan nilai aktivitas antioksidan dari mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.
2. Menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya mengenai pertumbuhan dan aktivitas antioksidan mikroalga.

## **BAB II**

### **KAJIAN PUSTAKA, KERANGKA BERPIKIR, DAN PERUMUSAN HIPOTESIS**

#### **A. Kajian Pustaka**

##### **1. Mikroalga**

Mikroalga merupakan kelompok organisme mikroskopis yang termasuk dalam kelas alga, memiliki diameter 3-30  $\mu\text{m}$ , baik sel tunggal maupun koloni yang lazim disebut fitoplankton. Mikroalga termasuk organisme eukariotik, umumnya bersifat fotosintetik dengan pigmen fotosintetik hijau (klorofil), coklat (fikosantin), biru kehijauan (fikobilin), dan merah (fikoeritrin). Menurut Romimohtarto (2004), morfologi mikroalga berbentuk uniseluler atau multiseluler tetapi belum ada pembagian tugas yang jelas pada sel-sel komponennya. Hal itulah yang membedakan mikroalga dengan tumbuhan tingkat tinggi.

Beberapa spesies alga juga termasuk dalam heterotrof yang memerlukan karbon organik seperti gula dan asam organik. Sifat lain dari golongan alga yaitu hanya dapat hidup jika terdapat sinar cahaya dan karbon dioksida beserta substansi organik secara simultan yang disebut sebagai organisme obligat fotoautotrof. Hal itu terjadi apabila nutrien alga untuk tumbuh berada di bawah kondisi (Droop, 1974 dalam Inthe, 2012).

Mikroalga terdiri atas empat kelompok besar, antara lain: diatom (Bacillariophyceae), alga hijau (Chlorophyceae), alga emas



(Chrysophyceae), dan alga biru (Cyanophyceae). Penyebaran habitat mikroalga umumnya di air tawar (limnoplankton), dan air laut (haloplankton).

## **2. Fase Pertumbuhan Mikroalga**

Pertumbuhan didefinisikan sebagai suatu peningkatan massa sel dan disertai ukurannya oleh sintesis makromolekul yang menghasilkan struktur baru (Becker, 1994). Pertumbuhan mikroalga pada umumnya diukur dari kepadatan sel pada setiap volume kultur ( $\log \text{ sel mL}^{-1}$ ). Menurut Fogg (1975), mikroalga mengalami beberapa fase pertumbuhan selama pertumbuhan yaitu:

### **1. Fase lag (adaptasi)**

Fase lag merupakan fase pertama dalam pertumbuhan mikroalga dan mengalami penurunan tingkat metabolisme karena fase inokulum yang tidak merata dan terjadi proses adaptasi terhadap media kultur.

### **2. Fase eksponensial (logaritmik)**

Fase kedua adalah fase eksponensial di mana percepatan pertumbuhan dan perbandingan konsentrasi komponen biokimia menjadi konstan.

### **3. Fase penurunan laju pertumbuhan (deklinasi)**

Fase ketiga merupakan fase penurunan laju pertumbuhan yang disebabkan populasi sel terus bertambah namun tidak ada penambahan nutrisi sedangkan pemanfaatan nutrisi oleh mikroalga terus berlanjut.

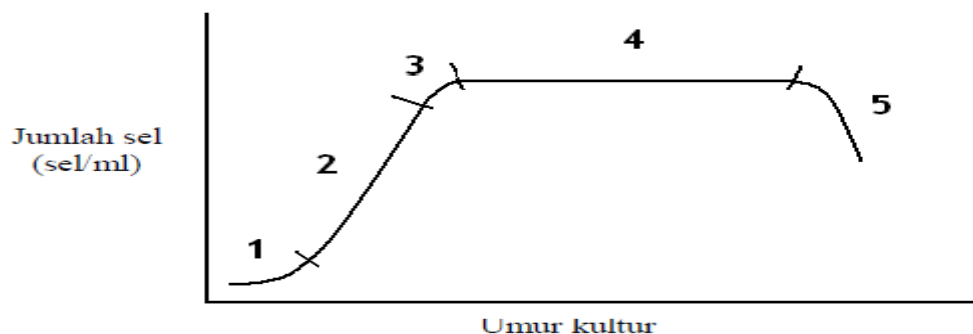
Terjadi persaingan antar sel untuk mendapatkan nutrisi yang semakin berkurang pada fase ini. Intensitas cahaya yang diterima sel semakin berkurang akibat jumlah sel yang semakin tinggi.

#### 4. Fase stasioner

Kurva pertumbuhan mulai berubah menjadi linier pada saat faktor-faktor yang mendukung pertumbuhan mulai habis. Peningkatan ukuran populasi tidak terjadi, jumlah sel terlihat cenderung konstan, karena laju pertumbuhan seimbang dengan laju kematian.

#### 5. Fase kematian

Fase kematian merupakan fase akhir yang ditandai dengan penurunan produksi biomassa karena kematian sel.



**Gambar 1.** Grafik Pola Pertumbuhan Sel Alga  
(1) Fase lag, (2) Fase eksponensial, (3) Fase deklinasi, (4) Fase stasioner, (5) Fase kematian (Fogg, 1975)

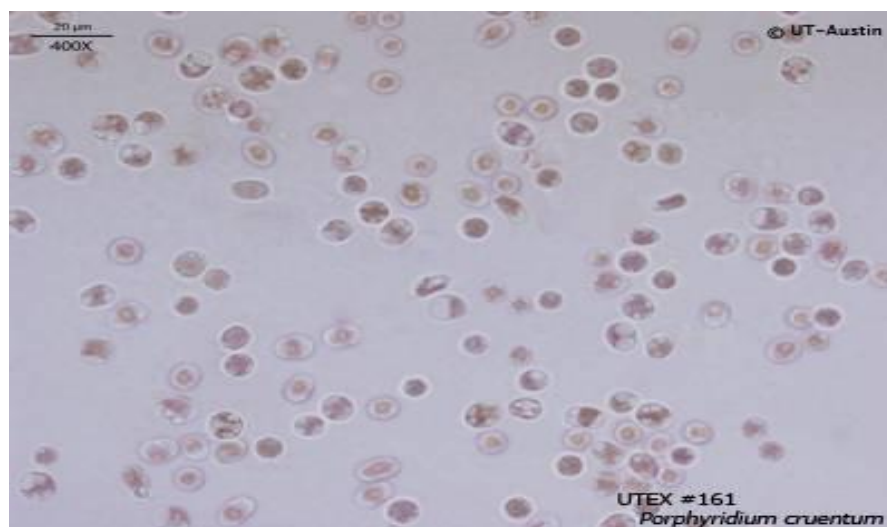
### 3. *Porphyridium cruentum*

*Porphyridium cruentum* adalah mikroalga merah bersel satu yang termasuk divisi Rhodophyta, hidup bebas atau berkoloni yang terikat dalam mucilago atau lendir. Senyawa mucilago dieksresikan oleh sel

membentuk sebuah kapsul yang mengelilingi sel. Menurut Vonshak (1988), mucilago merupakan polisakarida sulfat yang bersifat larut dalam air. Klasifikasi *Porphyridium cruentum* adalah sebagai berikut :

Divisi	: Rhodophyta
Kelas	: Rhodellophyceae
Bangsa	: Porphyridiales
Suku	: Porphyridiaceae
Marga	: <i>Porphyridium</i>
Jenis	: <i>Porphyridium cruentum</i> (Nageli, 1849)

Sel *Porphyridium cruentum* berbentuk bulat dengan diameter 4-9  $\mu\text{m}$ . Struktur selnya terdiri dari sebuah nukleus (inti), kloroplas, badan golgi, mitokondria, lendir, pati dan vesikel (Lee, 1989). *Porphyridium cruentum* memiliki dinding sel yang tersusun dari polisakarida kompleks yang terdiri dari glukosa, galaktosa, *xylose*, asam glukuronat dan asam metil glukuronat sebagai gula monomer. Menurut Arad dan Cohen (1989), *Porphyridium cruentum* memiliki kloroplas tunggal. Struktur kloroplas *P.cruentum* kecil, memiliki pirenoid dengan diameter antara 0,1-0,3  $\mu\text{m}$  dengan beberapa lamella (Brody dan Albert, 1958). Vonshak (1988) menambahkan bahwa permukaan membran tilakoid pada kloroplas diselimuti oleh *phycobilisome*.



**Gambar 2.** Sel *Porphyridium cruentum* (www.sbs.utexas.edu)

Faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga *Porphyridium cruentum* diantaranya adalah suhu, cahaya, salinitas, pH, serta nutrisi. Sel *Porphyridium cruentum* tumbuh pada kisaran suhu 10°-35°C. Aktivitas optimum fotosintesis pada kultur *Porphyridium cruentum* terjadi pada suhu 25°C (Vonshak, 1988). Suhu optimum untuk pertumbuhan *Porphyridium cruentum* adalah 21°-26°C dan pada suhu di bawah 13°C dan di atas 31°C pertumbuhannya lambat (Vonshak, 1988). Pertumbuhan *Porphyridium cruentum* tergantung pada intensitas cahaya meskipun *Porphyridium cruentum* memiliki toleransi yang cukup tinggi terhadap intensitas cahaya. Kultur yang ditumbuhkan di bawah cahaya secara kontinyu akan tumbuh dengan cepat. Pertumbuhan mikroalga akan meningkat lebih dari 400% bila intensitas cahaya diubah dari 538 lux menjadi 4300 lux. Pertumbuhan ini juga diikuti dengan peningkatan volume sel dan granula sitoplasma. Kandungan pigmen menurun sejalan dengan meningkatnya intensitas cahaya (Vonshak, 1988).

*Porphyridium cruentum* bertahan hidup pada kisaran salinitas yaitu 0,5-2 kali konsentrasi air laut (Vonshak, 1988). Salinitas sebesar 4,6% tidak menghambat proses pertumbuhan. Salinitas dengan kisaran 3,5-4,5% memacu pertumbuhan yang optimal. *Porphyridium cruentum* juga toleran terhadap perubahan pH pada kisaran antara 5,2-8,3. Aktivitas fotosintesis menurun hingga maksimum 33% ketika pH turun mencapai 5 dan pH optimum fotosintesis *Porphyridium cruentum* adalah 7,5 (Colman dan Gehl 1983 diacu dalam Vonshak 1988). Aktivitas fotosintesis menurun hingga maksimum 33% ketika pH turun mencapai 5 dan pH optimum fotosintesis *Porphyridium cruentum* adalah 7,5 (Vonshak, 1988).

*Porphyridium cruentum* dapat menggunakan  $\text{KNO}_3$  dan ammonium sebagai sumber nitrogen. Pertumbuhan dapat juga dihasilkan dengan menggunakan urea sebagai sumber nitrogen pada medium air laut (Vonshak 1988). Menurut Arad *et al.* (1988), terbatasnya jumlah nitrogen dalam medium akan menghambat fotosintesis, namun terbatasnya jumlah nitrogen ini akan berdampak pada meningkatnya ekskresi polisakarida ke dalam medium.

Menurut Vonshak (1988), produk komersial dari *Porphyridium* diantaranya adalah asam arakidonat, polisakarida, dan fikoeritrin. Biomassa kering sel *Porphyridium cruentum* mengandung 2% asam arakidonat, 35% polisakarida, dan 8% fikoeritrin. *Porphyridium cruentum* juga mengandung karotenoid yaitu *cis*-zeaxantin, *trans*-zeaxantin,  $\alpha$ -karoten, dan *cis*  $\alpha$ -karoten (Abidin, 2010)

#### 4. *Chlorella* sp.

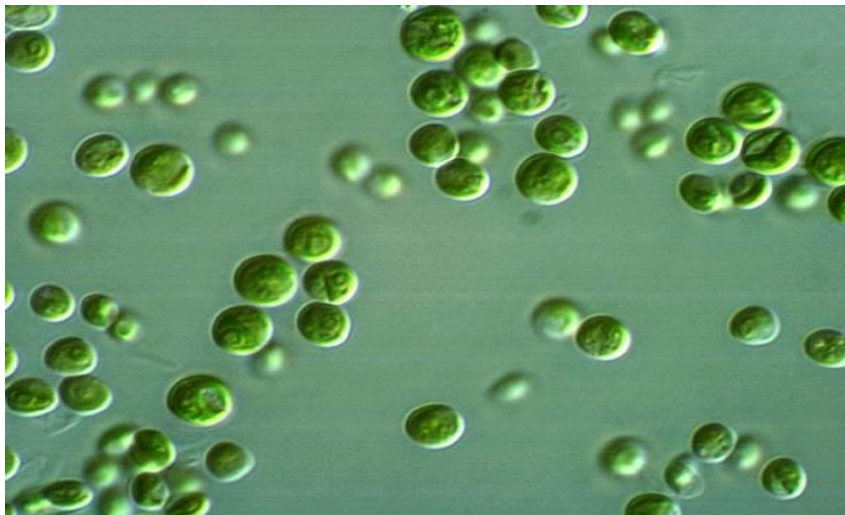
Menurut Kumar dan Singh (1976), *Chlorella* sp. termasuk divisi Chlorophyta. Klasifikasi *Chlorella* sp. adalah:

Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Chlorophyceae
Bangsa	: Chlorococcales
Suku	: Chlorellaceae
Marga	: Chlorella
Jenis	: <i>Chlorella</i> sp.

*Chlorella* sp. adalah alga uniselular yang berwarna hijau dan berukuran mikroskopis, diameter sel berukuran 2-5  $\mu\text{m}$ , berbentuk bulat seperti bola atau bulat telur, tidak mempunyai flagella sehingga tidak dapat bergerak aktif, dinding selnya terdiri dari selulosa dan pektin, tiap-tiap sel terdapat satu buah inti sel dan satu kloroplas. Zhang *et al.* (2008) mengatakan bahwa *Chlorella* sp memiliki kloroplas tunggal berbentuk cangkir atau cawan, memiliki pirenoid, dan ukuran pirenoid 2-3  $\mu\text{m}$ . *Chlorella* sp. merupakan alga yang kosmopolit, terdapat di air payau, air laut dan air tawar (Kumar dan Singh, 1976).

Biomassa *Chlorella* sp. memiliki berbagai senyawa aktif. *Chlorella* sp. diketahui sebagai penghasil beberapa jenis karotenoid seperti  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, lutein, zeaxantin, anteraxantin, dan violaxantin (Fretes *et al.*, 2012). Menurut Iwamoto (dalam Fretes *et al.*, 2012), setiap gram massa

sel kering terkandung karotenoid sebesar 7 mg, 3,5 mg lutein, 0,5 mg  $\alpha$ -karoten, 0,6 mg  $\beta$ -karoten, dan 35 mg klorofil pada *Chlorella pyrenoidosa*.



**Gambar 3.** Sel *Chlorella* sp. (<http://cfb.unh.edu/phycokey>)

Perkembangan *Chlorella* sp. terjadi secara vegetatif dengan membelah diri dan secara generati dengan peleburan sel gamet. Ganggang hijau memiliki karakteristik umum yaitu :

- a. Memiliki klorofil
- b. Menyimpan tepung cadangan makanan dalam kantung makanan atau pirenoid
- c. Memiliki dinding sel yang kuat yang tersusun atas polisakarida seperti selulosa dengan sebuah matrik dari hemiselulosa dan pektin.

Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan populasi

*Chlorella sp.* :

a. Temperatur

*Chlorella sp.* membutuhkan temperatur yang tinggi untuk pertumbuhannya. Temperatur optimum untuk pertumbuhan *Chlorella sp.* adalah 30°C.

b. Intensitas cahaya

Proses fotosintesis *Chlorella sp.* membutuhkan intensitas cahaya rata-rata 3000-4000 lux (Ohama dan Miyachi, 1992).

c. pH

Nilai pH menunjukkan kadar asam dan basa yang ditunjukkan oleh konsentrasi ion hidrogen. pH optimum untuk pertumbuhan *Chlorella sp.* adalah 6,6-7,3.

d. Unsur hara

Unsur-unsur yang dibutuhkan untuk pertumbuhan alga terdiri dari unsur mikro dan unsur makro. Makronutrien yaitu unsur-unsur yang dibutuhkan dalam jumlah besar, meliputi C, H, O, N, P, K, S, Si, Ca dan Cl. Mikronutrien adalah unsur-unsur yang dibutuhkan dalam jumlah sedikit dan merupakan koenzim meliputi Mn, Fe, Zn, Cu dan Mg.

e. Karbondioksida

Karbon merupakan salah satu makronutrien yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *Chlorella sp.* Salah satu sumber karbon di perairan adalah CO<sub>2</sub> yang secara langsung digunakan sebagai bahan untuk fotosintesis.



#### f. Salinitas

Salinitas adalah jumlah atau konsentrasi ion-ion terlarut dalam air yang dinyatakan dalam permil. Salinitas mempengaruhi kehidupan organisme perairan. Salinitas berhubungan erat dengan tekanan osmosis air. Semakin tinggi salinitas perairan maka semakin tinggi pula tekanan osmotik. Tekanan osmotik yang tinggi menghambat pertumbuhan *Chlorella sp.*

#### g. Kadar oksigen terlarut

Kadar oksigen terlarut untuk pertumbuhan *Chlorella sp* yang optimum berkisar 5-7 ppm, sedangkan pada kadar 3-5 ppm pertumbuhan mikroalga tersebut kurang produktif.

### 5. Antioksidan

#### 1. Definisi Antioksidan dan Radikal Bebas

Antioksidan merupakan senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu fungsinya sama sekali dan memutus rantai reaksi dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2006). Menurut Winarsih (2007), senyawa antioksidan memiliki berat molekul kecil, tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi, dengan cara mencegah terbentuknya radikal. Radikal bebas adalah molekul yang sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan pada orbital luar sehingga bereaksi dengan molekul sel tubuh dengan cara mengikat elektron sel tersebut, dan

mengakibatkan reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas baru (Ketaren, 1986). Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi dan mudah bereaksi dengan molekul lain yaitu DNA, protein, karbohidrat dan lainnya. Radikal bebas tidak dapat mempertahankan bentuk asli dalam waktu yang lama dan berusaha untuk berikatan dengan molekul yang bersifat stabil dan mengambil elektronnya.

Antioksidan merupakan senyawa yang menghambat reaksi oksidasi dengan mengikat radikal bebas dan molekul yang sangat reaktif. Akibatnya, kerusakan sel akan dihambat (Winarsih, 2007). Fungsi antioksidan adalah menetralkan radikal bebas, sehingga tubuh terlindungi dari berbagai macam penyakit degeneratif serta kanker.

#### **b. Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas di dalam Tubuh pada Proses Fosforilasi Oksidatif**

Mitokondria sebagai penghasil energi dalam bentuk ATP (adenosin trifosfat) diperlukan untuk menjaga aktivitas dan integritas sel. Sintesis ATP dapat berlangsung dengan adanya ATP sintase yang terjadi di dalam mitokondria. Menurut Himayanti *et al.* (2010), ATP sintase merupakan enzim yang mensintesis ATP melalui reaksi fosforilasi oksidatif.

Masing-masing kompleks menerima dan melepaskan elektron dalam proses transfer elektron. Elektron tersebut pada akhirnya akan ditangkap oleh oksigen molekuler yang kemudian bereaksi dengan sepasang ion hidrogen untuk membentuk molekul air. Selama proses transfer elektron tersebut, masing-masing kompleks memompa ion hidrogen (proton) dari

matriks mitokondria ke dalam ruang antar membran. Dengan demikian terjadi perbedaan konsentrasi proton pada matriks dan ruang antar membran. Himayanti *et al.* (2010) mengatakan bahwa gradien proton dapat menggerakkan proton kembali melintasi membran menuruni gradiennya. Kompleks ATP sintase bekerja untuk memfosforilasi ADP menjadi ATP ketika ion hidrogen mengalir menuruni gradiennya.

Oksigen dari hasil respirasi berperan sebagai akseptor elektron dalam proses fosforilasi oksidatif di mitokondria. Menurut Himayanti *et al.* (2010), rendahnya konsumsi oksigen mengakibatkan meningkatnya level reduksi dari sitokrom B sehingga akan terbentuk ubisemiquinon. Ubisemiquinon tersebut kemudian berinteraksi dengan O<sub>2</sub> dan menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS).

### **c. Penggolongan Antioksidan**

Antioksidan digolongkan menjadi antioksidan enzim dan non enzimatik (Rohmatussolihat, 2009). Antioksidan enzim meliputi superoksida dismutase (SOD), glutathion peroksidase dan katalase. Sebagai antioksidan, enzim-enzim ini bekerja menghambat pembentukan radikal bebas dengan cara memutuskan rantai reaksi kemudian mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil, sehingga antioksidan kelompok ini disebut *chain-breaking-antioxidant* (Winarsi, 2007).

Antioksidan non-enzimatik disebut juga antioksidan eksogenus, antioksidan ini bekerja secara preventif, dimana terbentuknya senyawa

oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal, atau dirusak pembentukan dari radikal bebas (Winarsi, 2007). Antioksidan non-enzimatik meliputi vitamin yaitu vitamin E (alfa tokoferol), vitamin C (asam askorbat), dan pro vitamin A (beta karoten) serta karotenoid yang meliputi  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, zeaxantin, dan astaxantin. Antioksidan  $\alpha$ -tokoferol 200 mg dan asam askorbat 1g dapat menghambat *acetazolamide* pada kondisi hipoksia (Teppema *et al.*, 2006).

**Tabel 1.** Angka Kecukupan Gizi (AKG) untuk Vitamin dan Mineral

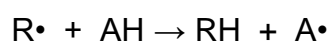
<b>Vitamin</b>	<b>AKG</b>	<b>Mineral</b>	<b>AKG</b>
Vitamin A	800 $\mu$ g	Kalsium	800 mg
Vitamin D	5 $\mu$ g	Magnesium	375 mg
Vitamin E	12 mg $\alpha$ -TE	Besi	14 mg
Vitamin K	75 $\mu$ g	Tembaga	1 mg
Vitamin B1	1,1 mg	Iodin	150 $\mu$ g
Vitamin B2	1,4 mg	Zink	10 mg
Niasin	16 mg	Mangan	2 mg
Vitamin B5	6 mg	Potasium	2000 mg
Vitamin B6	1,4 mg	Selenium	55 $\mu$ g
Asam folat	200 $\mu$ g	Kromium	40 $\mu$ g
Vitamin B12	2,5 $\mu$ g	Molibdenum	50 $\mu$ g
Biotin	50 $\mu$ g	Florida	3,5 mg
Vitamin C	80 mg	Klorida	800 mg
		Fosfor	700 mg

#### d. Fungsi dan Sumber Antioksidan

Antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa ini memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid ( $R\cdot$ ,  $ROO\cdot$ ) atau mengubahnya ke bentuk lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ( $A\cdot$ ) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipid. Molekul antioksidan radikal umumnya kurang reaktif dibandingkan dengan radikal bebas yang dinetralkan, dan dapat segera dinetralkan oleh antioksidan lain.

Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipid ke bentuk lebih stabil. Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipid menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi maupun propagasi. Reaksi penghambatan antioksidan primer terhadap radikal lipid adalah sebagai berikut (Gerster, 1997) :

1) Inisiasi :



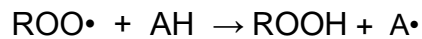
Keterangan:

$R\cdot$  : Radikal lipid

AH : antioksidan primer

A• : radikal antioksidan

2) Propagasi :



#### e. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan ditentukan salah satunya dengan menggunakan metode peredaman radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Prinsip metode penangkapan radikal adalah pengukuran penangkapan radikal bebas sintetik dalam pelarut organik polar seperti etanol atau metanol pada suhu kamar oleh suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antioksidan (Pokorni, 2001). Menurut Pine Stanley (1988), proses penangkapan radikal ini melalui mekanisme pengambilan atom hidrogen dari senyawa antioksidan oleh radikal bebas sehingga radikal bebas menangkap satu elektron dari antioksidan. Radikal bebas sintetik yang digunakan DPPH. Hasil pengukuran menunjukkan kemampuan antioksidan sampel secara umum dalam menghambat radikal bebas (Juniarti dan Yuhernita, 2009).

Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dilakukan menggunakan spektrofotometer. Senyawa DPPH dalam metanol berwarna ungu tua terdeteksi pada panjang gelombang sinar tampak sekitar 517 nm. Parameter untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah dengan  $\text{IC}_{50}$  (*Inhibitor Concentration*).  $\text{IC}_{50}$  merupakan

konsentrasi larutan substrat atau sampel yang akan menyebabkan reduksi terhadap aktivitas DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004).

## 6. Manfaat Mikroalga

Mikroalga memiliki berbagai manfaat, antara lain dalam peningkatan pasokan bahan pakan, pewarna alami, sebagai bahan baku industri farmasi, kosmetik, minuman, pupuk, pemurnian air limbah, bahkan sebagai bahan bakar. Menurut Abu-Rezq *et al.* (2010), biomassa mikroalga diketahui memiliki kandungan kimia yang memiliki nilai ekonomi tinggi seperti klorofil, senyawa karoten dan vitamin. Kandungan kimia tersebut diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Banyak mikroalga menghasilkan senyawa bioaktif seperti antioksidan, algisida, dan senyawa farmasi aktif. Alga juga telah diketahui sebagai sumber vitamin, prekursor vitamin, terutama asam askorbat, riboflavin, dan  $\alpha$ ,  $\beta$ -tokoferol. Mikroalga yang telah dieksplorasi potensi komersialnya yaitu *Dunaliella*, *Chlorella* dan *Spirulina*.

Karotenoid yang terkandung pada alga memegang peranan penting dalam proses fotosintesis bersama dengan klorofil. Karotenoid menunjukkan aktivitas sebagai antioksidan, mempengaruhi regulasi pertumbuhan sel, dan memodulasi ekspresi gen dan respon kekebalan tubuh. Karotenoid memberikan kontribusi yang besar bagi berbagai sektor kehidupan terutama sebagai sumber vitamin A yang bermanfaat bagi

organ visual, pewarna makanan, bahan aditif pada makanan, penambah sel darah merah, antioksidan, antibakteri, meningkatkan imunitas (Kusmiati *et al.*, 2010 dalam Fretes *et al.*, 2012).

## **B. Kerangka Berpikir**

Mikroalga merupakan salah satu fitoplankton yang paling menarik di bidang bioteknologi kelautan karena menjadi sumber yang berharga dari berbagai produk alami yang dimiliki. Kandungan kimia dalam biomassa mikroalga diketahui memiliki nilai ekonomi tinggi seperti klorofil, senyawa karoten dan vitamin. Kandungan kimia tersebut diketahui memiliki aktivitas sebagai antioksidan sehingga diyakini bahwa mikroalga bisa menjadi sumber alternatif antioksidan yang menjanjikan.

Jenis mikroalga yang mempunyai kandungan kimia yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan adalah *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. Kedua jenis mikroalga tersebut diketahui mensintesis metabolit bioaktif yang penting seperti sterol, tokoferol, dan karotenoid. *Porphyridium cruentum* diketahui mengandung karotenoid yaitu *cis*-zeaxantin, *trans*-zeaxantin,  $\alpha$ -karoten, dan *cis*  $\alpha$ -karoten. *Chlorella* sp. diketahui sebagai penghasil beberapa jenis karotenoid seperti  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, lutein, zeaxantin, anteraxantin, dan violaxantin.

Kultivasi merupakan cara untuk memenuhi kebutuhan stok biomassa mikroalga. Proses kultivasi melibatkan faktor lingkungan. Faktor lingkungan diketahui mempengaruhi pertumbuhan dari mikroalga.



Pertumbuhan dapat berjalan optimum dengan kondisi lingkungan yang sesuai. Kondisi lingkungan saat kultivasi diketahui juga berpengaruh terhadap kandungan antioksidan mikroalga. Antioksidan memiliki sifat yang tidak stabil terhadap faktor lingkungan seperti suhu dan cahaya sehingga berpengaruh terhadap aktivitas dalam meredam radikal bebas. Berdasarkan latar belakang, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui pertumbuhan yang dilihat dari jumlah kepadatan sel dan aktivitas antioksidan dari mikroalga khususnya pada *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. dengan perlakuan kultivasi yang berbeda yaitu kultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan.

### **C. Hipotesis Penelitian**

Perumusan hipotesis dalam penelitian ini antara lain :

1. Terdapat perbedaan pertumbuhan antara jenis mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.
2. Terdapat perbedaan pertumbuhan antara mikroalga *P.cruentum* dan *Chlorella* sp.yang dikultivasi dalam ruangan dan di luar ruangan.
3. Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara jenis mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.
4. Terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara mikroalga *P.cruentum* dan *Chlorella* sp. yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan.

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **A. Tujuan Operasional**

1. Menghitung kepadatan sel mikroalga jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan.
2. Mengukur nilai IC<sub>50</sub> antioksidan dari masing-masing mikroalga jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan.

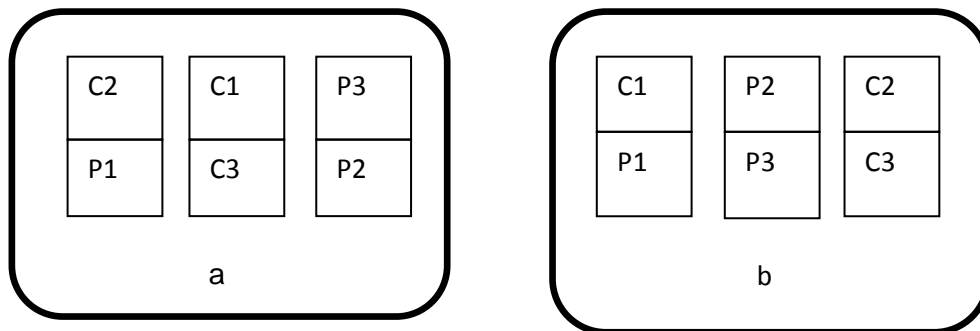
#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP), Petamburan, Slipi, Jakarta Barat pada bulan Juni-Agustus 2014.

#### **C. Metode Penelitian**

Metode yang digunakan adalah metode eksperimen dengan desain Rancangan Acak Lengkap. Penelitian melibatkan 2 faktor: faktor A adalah 2 level jenis dan faktor B adalah 2 level sistem kultur. Mikroalga yang digunakan adalah jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. Sistem kultur dilakukan dua perlakuan yaitu mikroalga dikultur di dalam ruangan dan

di luar ruangan dengan melakukan pengulangan sebanyak 3 kali untuk masing-masing jenis mikroalga. Variabel bebas meliputi sistem kultur (di dalam ruangan dan di luar ruangan). Variabel terikat meliputi kepadatan sel dan nilai aktivitas antioksidan ( $IC_{50}$ ). Medium kultur yang digunakan adalah air laut steril salinitas 25 ppt, diberi pupuk walne (pupuk conwy) yang optimum untuk pertumbuhan mikroalga dengan inokulasi kepadatan sel awal  $10^5$  hingga mencapai kepadatan  $10^6$  sel  $mL^{-1}$ .



**Gambar 4.** Desain Penelitian Kultivasi Mikroalga  
 a = kultivasi di dalam ruangan dan  
 b = kultivasi di luar ruangan  
 P = *P. cruentum*, C = *Chlorella* sp.

## D. Prosedur Penelitian

### 1. Alat dan Bahan

Pompa aerator, selang aerasi, *sentrifuge*, autoklaf, *haemocytometer*, *hand counter*, kuvet kaca, tabung falcon, termometer, refraktometer, mikroskop, *microplate reader*, wadah kultivasi, gelas kimia, kaca objek, kaca penutup, gelas ukur, pipet, timbangan analitik, biakan murni mikroalga jenis

*Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. didapat dari Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP), pupuk conwy, akuades, alkohol, etanol, DPPH, asam askorbat dan larutan metanol p.a (pro analisis).

## **2. Pelaksanaan Percobaan**

### **a. Pembuatan Pupuk Conwy**

Medium tumbuh yang digunakan untuk ketiga jenis mikroalga menggunakan pupuk Nutrien Conwy (Walne,1966 dalam Faria *et al.*, 2012). Pupuk Conwy terdiri dari: larutan A yang terdiri dari bahan-bahan yaitu 100,0 g  $\text{NaNO}_3$ , 20,0 g  $\text{NaHPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ , 45,0 g Na-EDTA, 33,6 g  $\text{H}_3\text{BO}_4$ , 0,78  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,36 g  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , seluruh bahan dilarutkan dalam 1000 mL akuades dan larutan B terdiri dari 2,1 g  $\text{ZnCl}_2$  , 2,0 g  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 0,9 g  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dan 0,9 g  $(\text{NH}_4) \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , semua bahan dilarutkan dalam 100 ml akuades.

### **b. Kultivasi Mikroalga**

Kultur murni mikroalga jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. diambil dari kultur stok koleksi Laboratorium kultivasi Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Peralatan yang digunakan untuk kultur disterilisasi dalam autoklaf selama 20 menit

pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  untuk mencegah kontaminasi selama tahap awal pertumbuhan sebelum dilakukan kultivasi.

Media yang digunakan adalah air laut steril. Air laut disterilkan dengan cara direbus hingga mendidih. Media air laut yang sudah dingin dan steril diberikan biakan mikroalga dengan kepadatan awal  $10^5$  untuk semua jenis mikroalga, kemudian ditambahkan pupuk conwy yaitu untuk larutan A sebanyak  $1 \text{ ml L}^{-1}$  dan larutan B sebanyak  $0,1 \text{ ml L}^{-1}$  (Amini, 1990). Wadah yang digunakan untuk kultur berukuran 10 L.

Kultur-kultur tersebut dilakukan di dalam ruangan dan di luar ruangan. Di dalam ruangan kultur dikultivasi dengan intensitas cahaya 2500 lux, suhu rata-rata  $26^{\circ}\text{C}$ , dan salinitas 25 ppt (kondisi lingkungan terkontrol). Di luar ruangan kultur dilakukan dengan menggunakan sumber cahaya matahari dengan intensitas sekitar 6500 lux, dan salinitas 25 ppt. Seluruh unit kultivasi diaerasi menggunakan pompa aerator (Susilowati dan Amini, 2010).

### **c. Penghitungan Kepadatan Sel**

Penghitungan kepadatan sel dilakukan dengan menghitung jumlah sel per milliliter setiap 24 jam. Kultur sel diambil dengan pipet tetes steril diteteskan pada *Haemocytometer Neubauer*, kemudian dihitung jumlah sel melalui mikroskop. Laju pertumbuhan sel dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Ohama dan Miyachi, 1992 dalam Amini, 2011):

$$k = \left( \frac{\log 10 \frac{N}{N_0}}{T - T_0} \right) \times 3,32$$

Keterangan:

N = jumlah sel pada waktu T

No = jumlah sel awal

T = waktu (hari)

To = waktu awal (hari)

3,32 = nilai konstanta

#### **d. Pemanenan**

Biomassa mikroalga dipanen dengan metode sentrifugasi. Sampel ditempatkan pada tabung falcon dan ditimbang sebanyak 300 gr kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 10°C. Hasil sentrifugasi berupa pelet dan supernatan, selanjutnya memisahkan pelet dari supernatan, pelet berupa biomassa mikroalga dan supernatan berupa larutan yang bening. Larutan yang jernih dibuang sehingga dihasilkan biomassa mikroalga yang berupa padatan (Amini, 1990).

#### **e. Persiapan Ekstrak Biomassa Mikroalga**

Biomassa mikroalga di ekstraksi dengan metode maserasi. Biomassa kering direndam dalam etanol dengan perbandingan 1:5 kemudian di maserasi selama 24 jam ditempatkan dalam kondisi gelap. Filtrat yang dihasilkan dipisahkan dengan cara evaporasi menggunakan *rotator evaporator* selama  $\pm$  30 menit (Goh, 2010). Setelah kering, ekstrak ditimbang yang kemudian disebut ekstrak kasar etanol.

#### **f. Pengujian Aktivitas Antioksidan secara Kuantitatif**

Pengujian dilakukan dengan menggunakan *microplate* 96 sumur (*well*) menurut King Li *et al.* (2006). Ekstrak dibuat dengan 8 seri konsentrasi 25 , 50, 100, 200, 400, dan 800  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . Ekstrak pada setiap seri konsentrasi dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 160  $\mu\text{L}$ . Sumuran yang sudah berisi ekstrak ditambahkan larutan DPPH masing-masing 40  $\mu\text{L}$ .

Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan 3 mg DPPH dalam 10 ml metanol p.a. Sebagai kontrol contoh, sebanyak 160  $\mu\text{L}$  ekstrak dimasukkan ke dalam sumuran lalu ditambahkan 40  $\mu\text{L}$  metanol p.a. Kontrol negatif dibuat dengan cara menambahkan 160  $\mu\text{L}$  metanol p.a. dengan 40  $\mu\text{L}$  DPPH dan sebagai blanko digunakan 200  $\mu\text{L}$  metanol p.a. Asam askorbat (vitamin C) digunakan sebagai kontrol positif dibuat menggunakan seri konsentrasi 2, 4, 6, 16 dan 32  $\mu\text{g mL}^{-1}$  serta volume yang sama dengan ekstrak yang diuji.

*Microplate* selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah 30 menit, absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Persentase penghambatan terhadap radikal bebas DPPH dari larutan sampel ditentukan dengan rumus:

$$\% \text{ hambatan} = \frac{(A-B) - (C-D)}{(A-B)} \times 100\%$$

Keterangan: A = absorbansi kontrol negatif

B = absorbansi blanko

C = absorbansi contoh

D = absorbansi kontrol contoh

Setelah didapatkan % hambatan (y) dari masing-masing konsentrasi (x), titik-titik (x,y) diplot pada bidang koordinat kemudian ditentukan persamaan  $y = ax+b$ , di mana a dan b adalah konstanta, x adalah konsentrasi sampel ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), dan y adalah persentase hambatan (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan *Inhibitory Concentration 50* ( $IC_{50}$ ) yaitu konsentrasi sampel (x) yang dapat meredam 50% radikal DPPH ( $y = 50$ ) sehingga nilai  $IC_{50}$  sama dengan nilai  $y = 50$ .



## E. Hipotesis Statistik

1.  $H_0 : \mu_{Pa1} = \mu_{Pa2} = \mu_{Pb1} = \mu_{Pb2}$

$H_1$  : salah satu rata-rata K tidak sama

Keterangan

$H_0$  = tidak terdapat perbedaan pertumbuhan pada *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

$H_1$  = terdapat perbedaan pertumbuhan pada *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

P = pertumbuhan sel

a = *Porphyridium cruentum*

b = *Chlorella* sp.

1 = kultivasi di dalam ruangan

2 = kultivasi di luar ruangan

2.  $H_0 : \mu_{Aa1} = \mu_{Aa2} = \mu_{Ab1} = \mu_{Ab2}$

$H_1$  : salah satu rata-rata A tidak sama

Keterangan

$H_0$  = tidak terdapat perbedaan pertumbuhan mikroalga kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan.

$H_1$  = terdapat perbedaan pertumbuhan mikroalga kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan.

A = aktivitas antioksidan

a = *Porphyridium cruentum*

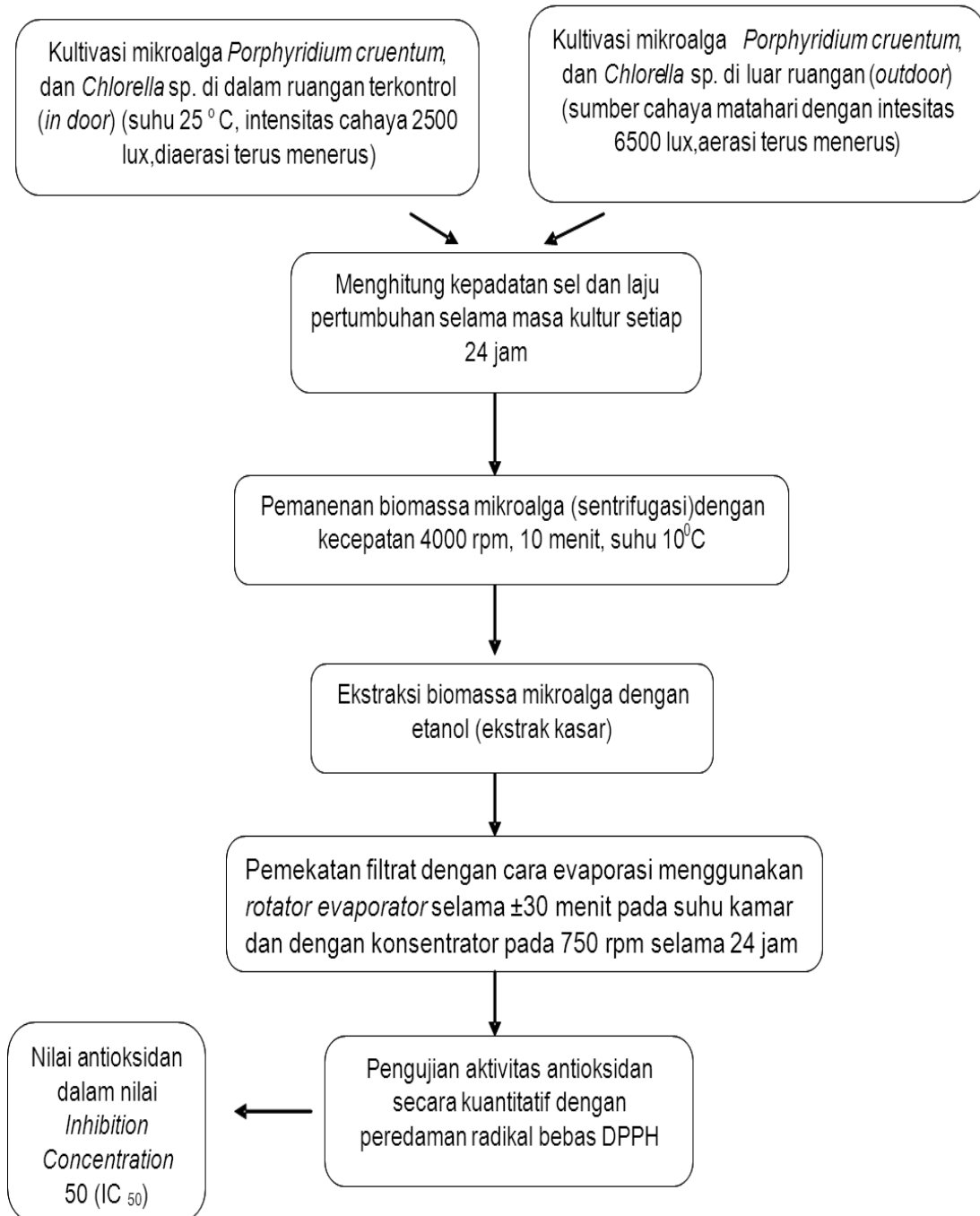
b = *Chlorella* sp.

1 = kultivasi di dalam ruangan

2 = kultivasi di luar ruangan

#### **F. Teknik Analisis Data**

Perbedaan kepadatan sel dan aktivitas antioksidan pada kedua jenis mikroalga diuji Analisis Varian dua arah atau *General Linier Model* (GLM) *Univariate* menggunakan SPSS versi 16.



**Gambar 5.** Diagram Alir Penelitian

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. Hasil

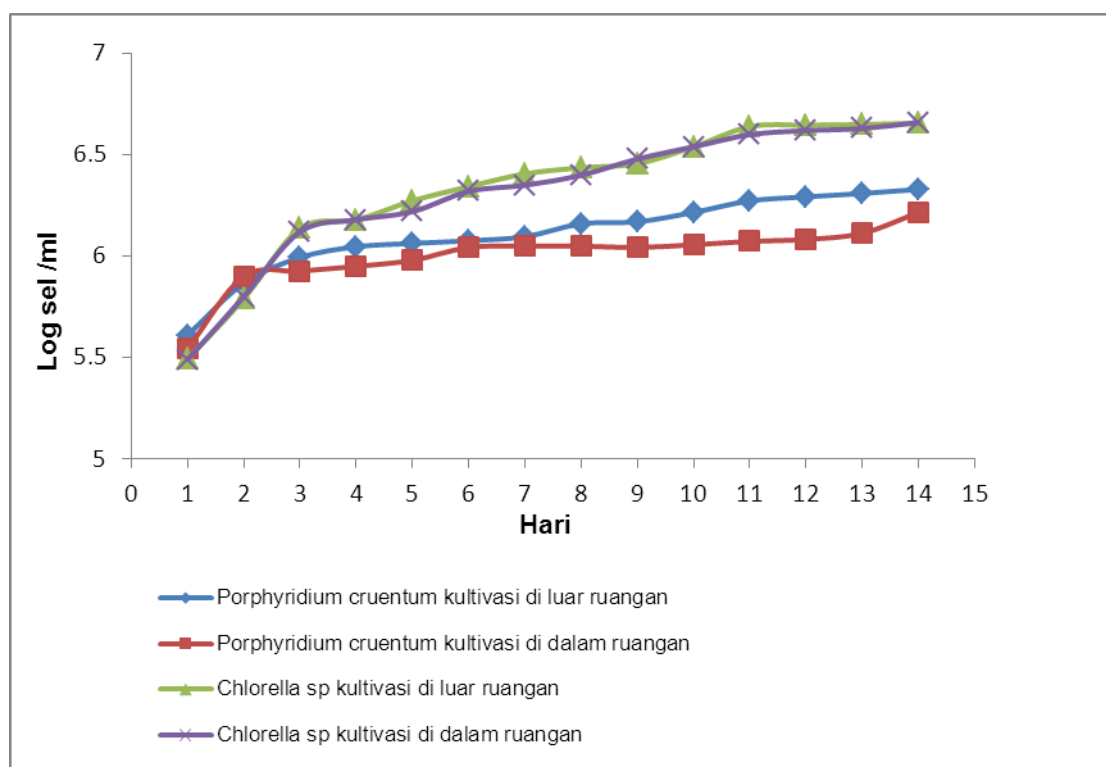
##### 1. Pertumbuhan Sel Mikroalga

###### a. Pertumbuhan Kepadatan Sel Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

Kepadatan sel dinyatakan dalam satuan logaritmik sel per mL ( $\log$  sel  $\text{mL}^{-1}$ ). Setiap sel dikultivasi dengan kepadatan awal  $10^5$  sel  $\text{mL}^{-1}$ . Kurva pertumbuhan mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. dapat dilihat pada Gambar 6. Kepadatan sel mikroalga baik pada *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. pada setiap perlakuan mengalami peningkatan sejak inokulasi awal. Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. baik yang dikultivasi di dalam ruangan maupun di luar ruangan mengalami fase eksponensial pada hari ke-2 sampai hari ke-11 (Gambar 6). Pertumbuhan dan kematian sel selanjutnya terjadi dengan seimbang sehingga jumlah sel terlihat konstan disebut dengan tahap stasioner yang dimulai pada hari ke-12 sampai ke-14 (Gambar 6).

Kultivasi kedua jenis mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan dilakukan hingga fase tetap (konstan) yaitu pada hari ke-14. Kepadatan akhir *Porphyridium cruentum* kultivasi di dalam ruangan mencapai  $6,22 \log$  sel  $\text{mL}^{-1}$  sedangkan di luar ruangan menghasilkan sel sebanyak  $6,33 \log$  sel  $\text{mL}^{-1}$ . *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan dan di

luar ruangan mencapai kepadatan akhir lebih tinggi dari *Porphyridium cruentum* yaitu 6,66 log sel mL<sup>-1</sup> (Lampiran 1).



**Gambar 6.** Pertumbuhan Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella sp.*

#### b. Pengukuran Parameter Lingkungan pada Media selama Kultivasi

Pengukuran kondisi lingkungan dilakukan hal ini karena faktor lingkungan sangat penting dalam pertumbuhan sel mikroalga. Faktor-faktor yang diamati yaitu suhu dan salinitas. Mikroalga kultivasi di dalam ruangan menggunakan intensitas cahaya 2500 lux, suhu berkisar antara 25°-26°C (Tabel 2). Salinitas yang digunakan pada media *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella sp.* yaitu 25 ppt dan media pada kedua jenis

tersebut mengalami peningkatan salinitas hingga akhir kultivasi. Salinitas pada media kultur *Porphyridium cruentum* meningkat hingga 30 ppt dan pada media kultur *Chlorella* sp. meningkat hingga 28 ppt (Tabel 2). Kultivasi di luar ruangan dilakukan dengan menggunakan sumber cahaya matahari dengan intensitas 6500 lux, suhu berkisar sekitar 26°-30°C dengan salinitas 25 ppt dan mengalami peningkatan (Tabel 2).

**Tabel 2.** Parameter Lingkungan Kultivasi Mikroalga

Spesies	Sistem kultur	Pengukuran	Parameter	Hasil Pengukuran Suhu (°C) dan Salinitas (ppt)
<i>Porphyridium cruentum</i>	Dalam ruangan	Hari ke 1-14	Suhu	25-26
			Salinitas	25-30
	Luar ruangan	Hari ke 1-14	Suhu	26-30
			Salinitas	25-26
<i>Chlorella</i> sp.	Dalam ruangan	Hari ke 1-14	Suhu	25-26
			Salinitas	25-28
	Luar ruangan	Hari ke 1-14	Suhu	26-30
			Salinitas	25-28

## 2. Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif. Uji kuantitatif dilakukan dengan menghitung persentase inhibisi seri larutan uji. Aktivitas antioksidan diekspresikan dengan nilai  $IC_{50}$  yang menunjukkan bahwa konsentrasi larutan uji yang dibutuhkan untuk dapat menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Pengujian dengan absorbansi peredaman radikal bebas DPPH dilakukan terhadap vitamin C, ekstrak etanol spesies *Porphyridium cruentum* kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan serta spesies *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan dibuat dengan berbagai konsentrasi. Absorbansi sampel dihitung aktivitas antioksidan dalam bentuk % inhibisi.

Vitamin C sebagai kontrol positif memiliki  $IC_{50}$  sebesar  $7,62 \mu\text{g mL}^{-1}$  dan ekstrak kasar etanol *P.cruentum* kultivasi di dalam ruangan sebesar  $729,5 \mu\text{g mL}^{-1}$ , *P.cruentum* kultivasi di luar ruangan sebesar  $1257,3 \mu\text{g mL}^{-1}$ , *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan sebesar  $594,6 \mu\text{g mL}^{-1}$ , dan *Chlorella* sp. kultivasi di luar ruangan sebesar  $1236,8 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol spesies *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan mempunyai nilai yang paling besar di antara semua perlakuan yaitu  $594,6 \mu\text{g mL}^{-1}$  dan spesies *Porphyridium cruentum* kultivasi di luar ruangan memiliki nilai terendah yaitu  $1257,3 \mu\text{g mL}^{-1}$  (Tabel 3).

**Tabel 3.** Nilai IC<sub>50</sub> Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal DPPH

Jenis	Konsentrasi Ekstrak (µg ml <sup>-1</sup> )	Persentase hambatan (%)			IC <sub>50</sub> (µg ml <sup>-1</sup> )			Mean
		I	II	III	I	II	III	
<i>Porphyridium cruentum</i> kultivasi indoor	25	5,4	10,3	3,4	691	644,3	853,2	729,5
	50	13,6	23,0	6,7				
	100	15,4	17,3	3,9				
	200	25,6	30,2	19,2				
	400	33,7	39,3	26,7				
	800	55,4	56,7	46,4				
<i>Porphyridium cruentum</i> kultivasi outdoor	25	5,2	0,1	0,1	854,7	1527	1390,1	1257,3
	50	3,7	0,9	1,8				
	100	4,5	2,5	6,4				
	200	10,2	6,3	9,2				
	400	24,1	9,0	10,7				
	800	47,6	27,0	30,2				
<i>Chlorella sp</i> kultivasi indoor	25	15,8	5,2	7,3	521,1	646,4	616,3	594,6
	50	11	6	10,6				
	100	25,5	18,7	22,3				
	200	30,5	22,5	28,2				
	400	42,5	28,5	31,3				
	800	68	61,5	62,5				
<i>Chlorella sp</i> kultivasi outdoor	25	10,1	8,9	9,4	941,4	1334,2	1433,5	1236,8
	50	14,9	11,6	12				
	100	12,3	13,4	13,4				
	200	11,7	12,4	14,4				
	400	26,8	21,2	21				
	800	44,7	33,8	32,6				
Vitamin C	2	39,2	a	a	7,62	a	a	a
	4	40,6	a	a				
	8	47,3	a	a				
	16	75,0	a	a				
	32	96,2	a	a				

Keterangan: a = tidak diujikan



### 3. Uji Hipotesis

Uji hipotesis statistik pada penelitian ini menggunakan Analisis Varian Dua Arah atau *General Linier Model (GLM) Univariate* pada parameter pertumbuhan dan aktivitas antioksidan. Hasil GLM *Univariate* diperoleh dari analisis menggunakan software statistik SPSS 16.0. Kriteria pengujian diterima apabila nilai signifikansi ( $p$ )  $< 0,05$  maka tolak  $H_0$ . Hasil yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa diperoleh nilai ( $p$ ) pada parameter kepadatan sel untuk faktor jenis adalah  $0,000 < 0,05$  maka  $H_0$  ditolak. Hal tersebut berarti bahwa terdapat perbedaan kepadatan sel antara jenis mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. Hasil tersebut berbanding terbalik pada faktor kultivasi ( $p = 0,375$ ) maka  $H_0$  diterima yaitu tidak terdapat perbedaan kepadatan sel antara mikroalga kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan.

**Tabel 4.** Hasil uji statistik menggunakan GLM *Univariate*

Variabel	Faktor	Signifikansi ( $p$ )
<b>Kepadatan sel</b>	Jenis	0,000
	Kultivasi	0,375
<b>Nilai IC<sub>50</sub></b>	Jenis	0,522
	Kultivasi	0,001

Tabel 4 memperlihatkan hasil nilai signifikansi pada parameter aktivitas antioksidan (nilai IC<sub>50</sub>) untuk faktor jenis adalah 0,522. Hal itu menunjukkan  $p > \alpha$  (0,05) yang berarti tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara jenis mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella*

sp. Nilai  $p$  pada faktor kultivasi adalah 0,001 maka  $H_0$  ditolak yaitu terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  antara mikroalga kultivasi di dalam ruangan dan kultivasi luar ruangan.

## **B. Pembahasan**

### **1. Pertumbuhan Sel Mikroalga**

#### **a. Pertumbuhan Kepadatan Sel Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.**

Berdasarkan grafik yang ditunjukkan pada Gambar 6, dapat diketahui bahwa tidak terlihat waktu pertumbuhan yang dibutuhkan oleh fitoplankton *Chlorella* sp. dan *P. cruentum* untuk beradaptasi terhadap media kultur (air laut yang ditambahkan dengan medium Conway dan vitamin). Pola pertumbuhan *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. baik kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan tidak menunjukkan adanya fase lag. Hal ini terjadi karena kedua spesies mikroalga tersebut diinokulasi dan diambil dari kultur inokulum pada fase eksponensial sehingga tidak mengalami fase lag. Hal ini dinyatakan oleh Spencer (dalam Fogg, 1975) bahwa lamanya fase lag tergantung dari umur inokulum, bahkan fase lag tidak terjadi bila inokulum telah mencapai fase logaritmik. Waktu adaptasi juga dipengaruhi oleh kondisi media tumbuh. Kedua spesies mikroalga ditempatkan dalam medium dan lingkungan yang sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya sehingga tidak diperlukan waktu untuk adaptasi.

Peningkatan kepadatan sel terjadi pada hari ke-2 hingga hari ke-11 yang disebut dengan fase eksponensial (Gambar 6). Fase stasioner selanjutnya terjadi pada hari ke-12 hingga hari ke-14 dimana jumlah sel mulai sedikit mengalami peningkatan dan cenderung konstan (Gambar 6). Kultivasi dan pemanenan mikroalga dilakukan hingga umur mikroalga mencapai fase stasioner akhir yaitu hari ke-14 hal ini bertujuan untuk mencegah mikroalga mengalami penurunan jumlah sel. Pemanenan biomassa mikroalga dilakukan pada fase stasioner dikarenakan pada fase ini terjadi metabolisme sekunder. Menurut Herbert (1995), metabolisme sekunder terjadi pada fase stasioner yang merupakan keseluruhan proses sintesis dan perombakan produk metabolit primer. Metabolit sekunder yang diproduksi selama fase stasioner yaitu senyawa terpen, alkaloid, pigmen (Manitto, 1992).

Berdasarkan hasil uji statistik pada Tabel 4, dengan nilai signifikansi  $<0,05$  diketahui bahwa terdapat perbedaan pertumbuhan antara faktor jenis yaitu *P.cruentum* dan *Chlorella* sp. Pertumbuhan yang paling tinggi terjadi pada *Chlorella* sp yaitu sebesar  $6,66 \log \text{ sel mL}^{-1}$  (Gambar 6). Hal ini dikarenakan ukuran sel pada *Chlorella* sp. lebih kecil dibandingkan dengan *P. cruentum* sehingga mampu menyerap nutrisi lebih banyak. Menurut Garofalo (dalam Mayasari, 2012), kebutuhan nutrisi sangat berkorelasi dengan sifat morfologi dari fitoplankton. Ukuran sel masing-masing jenis dalam hal ini yaitu  $3-5 \mu\text{m}$  untuk *Chlorella* sp. (Chinnasamy, 2009) dan  $4-9 \mu\text{m}$  untuk *P. cruentum* (Lee, 1989). Mayasari

(2012) juga mengatakan bahwa dengan sifat morfologi sel yang mempunyai ukuran kecil menyebabkan luas permukaan sel semakin besar sehingga proses masuknya nutrien ke dalam jaringan sel lebih cepat terjadi. Kepadatan sel dari yang tertinggi secara berturut-turut yaitu *Chlorella* sp. yang dikultivasi di luar ruangan, *Chlorella* sp. yang dikultivasi di dalam ruangan, *P.cruentum* yang dikultivasi di luar ruangan dan *P.cruentum* yang dikultivasi di dalam ruangan.

#### **b. Pengukuran Parameter Lingkungan pada Media selama Kultivasi**

Pengukuran parameter lingkungan dilakukan selama proses kultivasi, hal ini dikarenakan faktor lingkungan merupakan faktor penting dalam pertumbuhan sel mikroalga. Hasil pengukuran parameter lingkungan untuk kultivasi di dalam ruangan selama penelitian yaitu suhu antara 25<sup>o</sup>-26<sup>o</sup>C, salinitas 25-30 ppt pada media *P.cruentum* dan 25-30 ppt pada media *Chlorella* sp (Tabel 2). sedangkan kultivasi di luar ruangan hasil pengukuran suhu berkisar antara 26<sup>o</sup>-30<sup>o</sup>C, salinitas sebesar 25-26 ppt pada media *P.cruentum* dan 25-28 ppt pada media *Chlorella* sp (Tabel 2).

Berdasarkan faktor dari kultivasi yaitu di dalam ruangan dan di luar ruangan tidak menunjukkan adanya perbedaan pertumbuhan sel mikroalga. Hal ini dikarenakan kondisi lingkungan untuk pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. dan *P.cruentum* merupakan kondisi yang optimal serta media yang digunakan sama. Suhu untuk di dalam ruangan yaitu berkisar antara 25<sup>o</sup>-26<sup>o</sup>C dan di luar ruangan yaitu 26<sup>o</sup>-30<sup>o</sup>C (Tabel 2).

Menurut Sato (1991), suhu yang sesuai untuk kultur mikroalga di dalam ruangan berkisar antara 20°-25°C. Hal ini diperjelas oleh Thorton *et al.* (2010) bahwa suhu optimal untuk kultur mikroalga yaitu sekitar 20°-30°C sehingga kultivasi yang dilakukan di dalam ruangan serta di luar ruangan masih dalam kondisi yang optimal untuk pertumbuhan mikroalga. Kenaikan temperatur akan meningkatkan kecepatan reaksi. Setiap kenaikan 10°C umumnya dapat mempercepat reaksi 2-3 kali lipat tetapi temperatur tinggi yang melebihi temperatur maksimum akan menyebabkan proses metabolisme sel terganggu.

Salinitas yang digunakan pada media kultur kedua jenis mikroalga yaitu 25 ppt. Pertumbuhan kedua jenis mikroalga optimum pada salinitas tersebut. Pengukuran salinitas selama penelitian menunjukkan adanya peningkatan yaitu mencapai 28 ppt pada media *Chlorella* sp. yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan, 30 ppt pada media *P.cruentum* yang dikultivasi di dalam ruangan dan 26 ppt pada media *P.cruentum* yang dikultivasi di luar ruangan (Tabel 2). Menurut Rostini (2007), kenaikan salinitas kultur ini dapat terjadi karena adanya pengendapan garam dalam medium. Konsentrasi garam dalam medium meningkat akibat penguapan air laut oleh panas yang berasal dari lampu dan cahaya matahari. Hal ini diperkuat oleh Darley (dalam Yulianto, 1989) yaitu tinggi rendahnya salinitas dipengaruhi oleh adanya penguapan di suatu daerah.

Kepadatan sel tetap meningkat meskipun tidak signifikan di saat salinitas mengalami peningkatan hingga mencapai 30 ppt. Hasil penelitian ini juga serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Fathi dan Alireza (2013) yaitu kepadatan sel *Chlorella* sp. hanya sedikit mengalami peningkatan ketika dikultivasi pada salinitas 30 ppt, dimana kepadatan sel pada hari ke-10 sebanyak  $4 \times 10^4$  sel mL<sup>-1</sup> dan pada hari ke-15 hanya mencapai  $5 \times 10^4$  sel mL<sup>-1</sup>. Menurut Lee dan Kim (2002), spesies mikroalga menunjukkan adaptasi yang baik pada salinitas 20 dan 25 ppt dibandingkan pada salinitas di atas 30 ppt. Peningkatan salinitas dapat mengakibatkan stres untuk alga sehingga alga memiliki strategi toleran garam yang berbeda, serta dalam penyerapan nutrisi dan pertumbuhan (Choi *et al.*, 2010). Hal ini juga dikatakan oleh Edward *et al.* (dalam Choi *et al.*, 2010) bahwa jumlah sel alga dapat menurun ketika dikultivasi di bawah salinitas yang tinggi meskipun ada peningkatan anorganik, sukrosa dan prolin. Menurut Kirrolia *et al.* (2011), terdapat beberapa kajian efek stres garam pada mikroalga yaitu efek penghambatan NaCl pada fluoresensi klorofil, fotokimia dan fungsi fotosistem II.

Faktor lingkungan lain yang mendukung pertumbuhan mikroalga adalah cahaya. Sumber cahaya yang digunakan pada ruangan kultur di dalam dan di luar ruangan berbeda. Kultivasi di dalam ruangan menggunakan lampu TL (*tubular lamp*) sebagai sumber cahaya dengan intensitas cahaya sekitar 2500 lux sedangkan di luar ruangan menggunakan sumber cahaya matahari dengan intensitas sekitar 6500

lux. Intensitas cahaya yang digunakan pada kultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan masih dalam rentang optimal untuk pertumbuhan *P.cruentum* dan *Chlorella* sp sehingga pertumbuhan mikroalga di antara kedua perlakuan kultivasi tidak berbeda. Menurut Coutteau (1996), mikroalga cocok dikulturkan pada intensitas cahaya 1000 lux, sedangkan untuk volume yang lebih besar pada intensitas 5000-10000 lux.

Kondisi cahaya mempengaruhi langsung pertumbuhan dan fotosintesis mikroalga (durasi dan intensitas) (Al-Qasmi, 2012). Menurut Hendersen-Seller (1987), cahaya yang dibutuhkan mikroalga di dalam proses fotosintesis memiliki batas dan kisaran tertentu, pada umumnya intensitas cahaya yang lebih besar lebih efektif bagi proses fotosintesis, namun pada tingkat cahaya yang sangat tinggi dapat mengurangi laju proses tersebut dan menghambat pembelahan sel. Hasil pada penelitian ini, intensitas cahaya yang digunakan dalam batas optimal sehingga pertumbuhan mikroalga baik yang dikultivasi di dalam ruangan maupun di luar ruangan tidak terhambat dan proses fotosintesis dapat berjalan dengan baik. Intensitas cahaya merupakan faktor penting untuk konversi energi cahaya menjadi biomassa alga (Edwards, 2006).

Organisme fotosintetik menyerap cahaya dalam bentuk foton. Foton tersebut akan digunakan oleh klorofil untuk memecah ikatan hidrogen pada air yang nantinya bersama CO<sub>2</sub> dalam fotosintesis akan digunakan untuk mensintesis gula (Salisbury dan Ross, 1995). Belcher (dalam Al-Qasmi, 2012) mengatakan bahwa dalam proses fotosintesis pada reaksi

terang, cahaya digunakan untuk menghasilkan adenosin trifosfat (ATP), sedangkan pada reaksi gelap dimana proses yang tidak lagi bergantung pada keberadaan cahaya terjadi sintesis molekul-molekul yang penting untuk pertumbuhan. Reaksi gelap dapat terjadi dengan adanya enzim.

## **2. Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.**

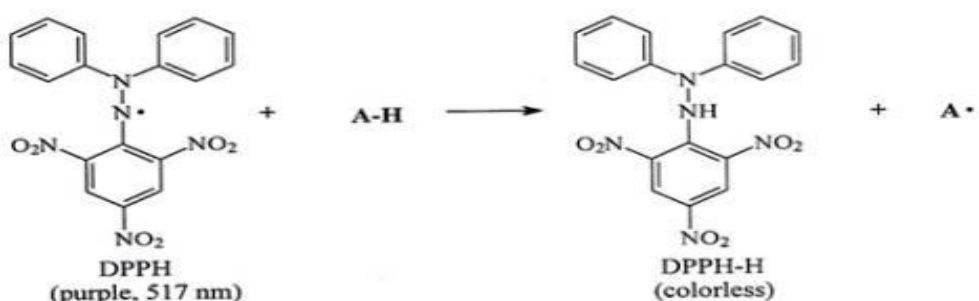
Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). DPPH merupakan suatu radikal bebas yang stabil yang bila bereaksi dengan suatu zat yang dapat menyumbangkan hidrogen (antioksidan) akan tereduksi menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) (Molyneux, 2004). Vadlapudi (2012) mengatakan bahwa metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padat atau cair dan tidak spesifik untuk setiap komponen antioksidan tertentu, tapi berlaku untuk keseluruhan kapasitas antioksidan dari sampel.

Berdasarkan reaksi antara DPPH dan senyawa antioksidan dari ekstrak *P.cruentum* dan *Chlorella* sp., diperoleh nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  yaitu konsentrasi tertentu yang dapat memberikan 50% efek penghambatan radikal bebas. Menurut Es-Safi *et al.* (2007), nilai  $IC_{50}$  dianggap sebagai ukuran baik dari efisiensi antioksidan senyawa-senyawa murni ataupun ekstrak.

Daya hambat terhadap radikal bebas DPPH diukur secara spektrofotometri cahaya tampak berdasarkan perubahan warna yang



terjadi. DPPH bila dilarutkan dengan metanol akan berwarna ungu, dan setelah bereaksi dengan suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan berubah menjadi 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) yang berwarna kuning (Molyneux, 2004). Perubahan warna DPPH terjadi karena adanya senyawa yang dapat memberikan hidrogen kepada radikal DPPH sehingga tereduksi menjadi DPPH-H.



**Gambar 7.** Reduksi DPPH dari senyawa peredam radikal bebas (Prakash *et al.*, 2001)

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan lebih tinggi daripada ekstrak etanol *Chlorella* sp. kultivasi di luar ruangan. Hal tersebut juga terjadi pada jenis *P.cruentum*, aktivitas antioksidan untuk ekstrak etanol *P.cruentum* kultivasi di dalam ruangan lebih tinggi daripada ekstrak etanol *P.cruentum* kultivasi di luar ruangan. Menurut Pokorni (2001), pemanasan ataupun iradiasi menyebabkan peningkatan terjadinya rantai inisiasi dan propagasi dari reaksi oksidasi dan menurunkan aktivitas antioksidan yang ditambahkan dalam ekstrak. Energi tinggi yang berasal dari radiasi cahaya ultraviolet dapat menyebabkan oksidasi lemak dengan memutus ikatan rangkap pada

asam lemak sehingga menyebabkan inisiasi dan juga dapat menurunkan energi aktivasi suatu molekul.

Semakin kecil nilai  $IC_{50}$  menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan (Molyneux, 2004). Nilai  $IC_{50} < 200 \mu\text{g mL}^{-1}$  termasuk ke dalam antioksidan kuat sehingga bisa dikatakan *P.cruentum* dan *Chlorella* sp. memiliki aktivitas antioksidan lemah. Hasil ini serupa dengan penelitian yang dilakukan Priya dan Murugesan (2014) bahwa nilai  $IC_{50}$  ekstrak metanol *Chlorella saccharophila* sebesar  $933 \mu\text{g mL}^{-1}$ . Hal ini diduga karena rendahnya kandungan senyawa antioksidan yang terkandung pada ekstrak etanol kedua jenis mikroalga tersebut. Menurut Movahedinia dan Mohsen (2012), aktivitas antioksidan berkaitan dengan kandungan senyawa antioksidan. Senyawa antioksidan dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu faktor eksternal dan faktor internal. Connan *et al.* (dalam Movahedinia dan Mohsen, 2012). menambahkan bahwa faktor eksternal yang mempengaruhi di antaranya paparan matahari, kedalaman, salinitas, bahan, dan faktor internal di antaranya jenis serta usia.

Aktivitas antioksidan juga bisa dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi. Peningkatan aktivitas antioksidan dari alga merah dan alga hijau terjadi saat aseton dimanfaatkan sebagai pelarut ekstraksi (Cox *et al.*, 2010). Matsukawa *et al.* (dalam Cox *et al.*, 2010) menambahkan bahwa ekstrak alga merah telah dilaporkan menunjukkan aktivitas peredaman radikal DPPH yang lemah ketika diekstraksi dengan menggunakan air, etanol atau metanol sebagai pelarut, sementara ekstrak

kloroform, etil asetat dan aseton dari beberapa alga merah dan alga hijau telah dilaporkan menunjukkan aktivitas peredaman DPPH yang kuat. Aseton merupakan pelarut yang bersifat semipolar sedangkan etanol merupakan pelarut yang bersifat polar, sehingga kemungkinan senyawa yang ada pada ekstrak alga merah dan alga hijau memiliki sifat semipolar dan akan larut secara sempurna ketika diekstrak dengan pelarut aseton. Oleh karena itu, pelarut khusus digunakan untuk mengekstrak bahan akan memiliki efek pada senyawa yang terkandung pada ekstrak.

Faktor lain yang mempengaruhi aktivitas antioksidan yaitu waktu maserasi. Maserasi dilakukan selama 24 jam pada penelitian ini. Hal tersebut diduga yang menyebabkan aktivitas antioksidan rendah dikarenakan masih ada senyawa-senyawa tertentu yang belum terpisah. Ekstraksi senyawa bioaktif seperti antioksidan menggunakan metode yang memerlukan waktu lama. Boonchumet *et al.* (dalam Sasmito *et al.*, 2014) mengatakan bahwa telah dilakukan beberapa penelitian untuk ekstraksi antioksidan, waktu yang digunakan untuk tahap maserasi dilakukan selama 3 hari. Sasmito *et al.* (2014) menambahkan bahwa jika waktu yang digunakan untuk mengekstrak terlalu lama pada kondisi suhu kamar, kemungkinan dapat mengakibatkan antioksidan yang diekstrak banyak mengalami oksidasi dan penurunan kualitas.

Hasil uji statistik yang ditunjukkan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa tidak menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan di antara kedua spesies. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan kandungan

antioksidan seperti fenolik yang terdapat pada *P.cruentum* dan *Chlorella* sp. Penelitian yang dilakukan oleh Goiris *et al.* (2012) menunjukkan kandungan fenolik dari *Chlorella* sp. dan *P.cruentum* tidak jauh berbeda. *Chlorella vulgaris* menghasikan kandungan fenolik sebesar 1,30 mg g<sup>-1</sup> biomassa, serta untuk *P.cruentum* menghasilkan kandungan fenolik sebesar 1,22 mg g<sup>-1</sup>. Menurut Ebrahimzadeh *et al.* (2009), kandungan fenol yang tinggi menyebabkan aktivitas peredaman DPPH yang lebih baik. Aktivitas penangkap radikal bebas terjadi oleh senyawa fenol karena mempunyai kemampuan mendonorkan elektron atau hidrogen sehingga menghasilkan radikal stabil yang berenergi rendah, struktur radikal baru ini menjadi stabil (Reische *et al.*, 2002). Tidak sepenuhnya peran terhadap peredaman radikal DPPH dalam aktivitas antioksidan pada alga dipengaruhi oleh senyawa fenolik. Shahidi (2008) dalam Cox *et al.* (2010) mengatakan bahwa aktivitas antioksidan dari ganggang laut bisa berasal dari pigmen seperti klorofil dan karotenoid, vitamin dan prekursor vitamin termasuk  $\alpha$ -tokoferol,  $\beta$ -karoten, niasin, tiamin, asam askorbat, flavonoid, terpenoid, peptida, dan zat antioksidatif lain.

Hasil analisis statistik yang tersaji pada Tabel 4 menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai aktivitas antioksidan mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan. Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan Zhan Ping Zhou (2005) yaitu aktivitas antioksidan fikosianin dari *Spirulina plantesis* meningkat 12,58% ketika dikultivasi di tempat gelap. Hal tersebut diduga karena sumber cahaya

pada kultivasi di luar ruangan menggunakan cahaya matahari. Paparan sinar matahari tersebut dapat mendegradasi senyawa antioksidan pada mikroalga karena mengandung sinar UV. Menurut Chamnongpol *et al.* (1997), UV-B (320-290 nm) dapat merusak ikatan kovalen antaratom dan merusak DNA dengan menyebabkan oksidatif silang menghubungkan antara basa pirimidin yang berdekatan membentuk dimer pirimidin siklobutana. Cahaya UV dengan panjang gelombang pendek menyebabkan molekul terdegradasi lebih cepat. Zapsalis (dalam Widiyanti, 2009) mengatakan bahwa sifat antioksidan mudah teroksidasi dengan adanya cahaya, panas dan oksigen.

Intensitas cahaya di luar ruangan berkisar 6500 lux dan memiliki aktivitas antioksidan jauh lebih rendah daripada kultivasi di dalam ruangan dengan intensitas 2500 lux. Hal tersebut terjadi dikarenakan intensitas cahaya di luar ruangan yang berasal dari sinar matahari tinggi dan mengandung sinar ultraviolet yang menyebabkan proses pembentukan radikal bebas lebih banyak. Menurut Cakmak (dalam Afsharnia *et al.*, 2013), intensitas cahaya mempengaruhi senyawa antioksidan karena dengan intensitas cahaya yang tinggi menyebabkan terbentuknya spesies oksigen reaktif (ROS) dalam kloroplas. ROS pada alga ternyata dapat terjadi dalam kondisi normal namun proses pembentukan berjalan lambat, ketika cahaya tinggi dan terkena sinar UV dapat mempercepat proses pembentukan ROS (Carvalho *et al.*, 2004). Peningkatan produksi ROS merupakan indikator stres (Saragosti, 2010).

ROS tidak mempunyai pasangan elektron sehingga radikal bebas tersebut akan berusaha untuk mencapai kestabilan dengan menyerang molekul terdekat untuk mencari pasangan elektron sehingga akan merusak bentuk molekul tersebut. Akibat dari aktivitas radikal bebas ini maka makromolekul seperti protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat serta vitamin akan mengalami degradasi (Burdurly *et al.*, 2006). Hal ini juga dikatakan oleh Apel dan Hirt (2004) bahwa reaksi ROS menyebabkan kerusakan semua kelas biomolekul, menyebabkan peroksidasi lemak, denaturasi protein dan asam nukleat.

## BAB V

### KESIMPULAN, IMPLIKASI DAN SARAN

#### A. Kesimpulan

1. Pertumbuhan kepadatan sel akhir tertinggi terjadi pada jenis *Chlorella* sp.
2. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pertumbuhan antara mikroalga jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. namun tidak terdapat perbedaan pertumbuhan antara kultivasi di dalam dan di luar ruangan pada kedua jenis mikroalga.
3. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol tertinggi pada mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan.
4. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak mikroalga yang dikultivasi di dalam dan di luar ruangan namun tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara mikroalga *P.cruentum* dan *Chlorella* sp.

#### B. Implikasi

*P.cruentum* dan *Chlorella* sp. memiliki aktivitas antioksidan yang sama, dan memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi bila dikultivasi di dalam ruangan. Penelitian ini menginformasikan bahwa intensitas cahaya mempengaruhi kestabilan antioksidan sehingga untuk penelitian lebih lanjut perlu diperhatikan faktor cahaya pada saat kultivasi agar kandungan

antioksidan tidak rusak dalam pemanfaatannya sebagai sumber antioksidan alami.

### **C. Saran**

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap antioksidan yang terkandung dalam *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. dengan melakukan pemurnian lanjutan dari ekstrak kasar untuk mendapatkan senyawa murni kedua jenis mikroalga tersebut.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antioksidan lebih lanjut dengan metode yang berbeda.
3. Proses pengkulturan mikroalga sebaiknya dikultivasi di dalam ruangan dan memperhatikan faktor-faktor yang dapat mengurangi kestabilan dari senyawa antioksidan.



## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, D., Rodonuwu F.S., Zinuri M. 2010. Analysis of Photosynthetic Pigments and Proximate Content At *Porphyridium cruentum*. *Proceeding of Natural Pigments Conference For South East Asia*. Malang. P 231-237.
- Abu-Rezq, T. S., Al-Hooti S., Jacob D., Al-Shamali M., Ahmed A., Ahmed N. 2010. Induction and extraction of  $\beta$ -carotene from the locally isolated *Dunaliella salina*. *J. Algal Biomass Utiln.* (4): 58-83
- Afsharnia, M. N. Aliasgharzad, R. Hajiboland, S. Oustan. 2013. The Effect of Light intensity and Zinc Deficiency on Antioxidant Enzyme Activity, Photosynthesis of Corn. *International journal of Agronomy and Plant Production*. Vol., 4 (3), 425-428.
- Ahmad dan Ahmad, B. M. 1994. Ekologi air tawar. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur. P 107- 123.
- Al-Qasmi, A.M., Nitin Raut M., Sahar T., Sara Al-Rajhi., Tahir Al-Barwani. 2012. Review of Effect of Light on Microalgae Growth.. *Proceedings of the World Congress on Engineering* Vol I WCE, July 4 - 6, London, U.K.
- Amini, S. 1990. Penelitian Budidaya Plankton Laut *Isochrysis galbana* klon Tahiti secara Berkesinambungan. *Prosiding Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan*. Jakarta. P 277-278.
- Amini, S. 2011. Kandungan Minyak Mikroalga Jenis *Tetraselmis* sp. Dan *Chlorella* sp. Berdasarkan Umur Pertumbuhannya. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*.
- Apel, K., dan H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Annu. Rev. Plant Biol.* 55, 373–379.
- Arad S.M, Friedman O, Rotem A. 1988. Effect of nitrogen on polysaccharide production in a *Porphyridium* sp. *Applied and Environmental Microbiology* 54(10): 2411-2414.
- Arad, S.M. dan Cohen. 1989. *Closed system for outdoor cultivation of Porphyridium*. *Biomass*. 18: 59-67.
- Becker, E.W. 1994. *Microalgae Biotechnology and Microbiology*. USA: Cambridge University Press.

- Brody, M. dan Albert E. Vatter. 1958. Observations on Cellular Structures of *Porphyridium cruentum*. *Biophysic. and Biochem. Cytol.*, Volume 5, No. 2.
- Burdurly, H. S., Koca N., F. Karadeniz. 2006. Degradation of vitamin C in citrus juice concentrates during storage. *Journal of Food Engineering* 74: 211-216.
- Carvalho, A.M., Ana M.P.N., Angela P.T., Ernani P., Karina H.M.C., Maisa R.P.L.B., Marcelo P.B. 2004. Circadian Protection Against Oxidative Stress In Marine Algae. *Hypnos*, 1 (Suppl 1): 142-157.
- Chamnongpol, S., Willekens, H., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Camp, W. 1997. Transgenic tobacco with 8 reduced catalase activity develops necrotic lesions and induces pathogenesis-related proteins under high light. *Plant J.*, 10, 491-503.
- Chinnasamy, S., Ramakrishnan B., Bhatnagar A., Das K.C. 2009. Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 Under Elevated Levels of CO<sub>2</sub> and Temperature. *International Journal of Molecular Science* 10, P 518-53.
- Choi, T.S., Eun Ju Kang, Ju-hyoung Kim, Kwang Young Kim. 2010. Effect of salinity on growth and nutrient uptake of *Ulva pertusa* (Chlorophyta) from an eelgrass bed. *Algae*, 25(1): 17-26.
- Coutteau, P. 1996. Microalgae: Manual on The Production and Use of Live Food for Aquaculture. *FAO Fisheries Technical Paper 361*. FAO, Rome
- Cox, S., Abu-Ghannam, N., Gupta, S. 2010. An Assessment of the Antioxidant and Antimicrobial Activity of Six Species of Edible Irish Seaweeds. *International Food Research Journal* 17: 205-220.
- Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.F., Eslami B. 2009. Antioxidant activity of aqueous extract of *Pyrus boissieriana* fruit. *Pharmacologyonline*, 1: 1318-1323.
- Edwards, K.F., Pfister, C.A., Van Alstyne, K.L. 2006. Nitrogen content in the brown alga *Fucus gardneri* and its relation to light, herbivory and wave exposure. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 336, 99 – 100.
- El Nabris, K. 2012. Development of Cheap and Simple Culture Medium for the Microalgae *Nannochloropsis* sp. Based on Agricultural Grade

Fertilizers Available in the Local Market of Gaza Strip (Palestine).  
*Journal of Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences)* 14 : 61-76.

- Es-Safi, N.E., S. Ghidouche, P.H. Ducrot. 2007. Flavonoids; Hemisynthesis, Reactivity, Characterization and free radical scavenging activity. *Molecules*, 12: 2228.
- Faria G.R., Caroline R.P.S. Paes, Dominique J.F.A. Castro, Natália A.B. Tinoco, Elisabete B., Sergio O. L. 2012. Effects of the availability of CO<sub>2</sub> on growth, nutrient uptake, and chemical composition of the marine microalgae *Chlorella* sp. And *Nannochloropsis oculata*, two potentially useful strains for biofuel production. *International Research Journal of Biotechnology (ISSN: 2141-5153)* Volume 3(5), 65-75.
- Fathi, M. dan Alireza Asem. 2013. Investigating the impact of NaCl salinity on growth,  $\beta$ -carotene, and chlorophyll a in the content life of halophytes of algae *Chlorella* sp. *AAFL Bioflux*, Volume 6, Issue 3.
- Fogg, G. E. 1975. *Algal Culture and Phytoplankton Ecology*. London: The University of Wisconsin Press.
- Fretes, H., A.B. Susanto, Budhy P., Leenawaty L. 2012. Karotenoid dari Makroalga dan Mikroalga: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, Volume 23 No.2.
- Gerster, H. 1997. Vitamin A-functions, dietary requirements and safety in humans. *Int J Vitam Nutr Res*. 67: 71-90.
- Goh, Su-Hua. 2010. A Comparison of the Antioxidant Properties and Total Phenolic Content in a Diatom, *Chaetoceros* sp. and a Green Microalga, *Nannochloropsis* sp. *Journal of Agricultural Science* Volume 2, No. 3
- Goiris, K., Koenraad M., Ise F., Imogen F., Jos De B., Luc De Cooman. 2012. Antioxidant Potential of Microalgae in Relation To Their Phenolic and Carotenoid Content. *J Appl Phycol*.
- Hendersen-Seller, B. dan Markland, H.R. 1987. *Decaying Lakes. The origins and control of cultural eutripications*. John Wiley and Son. Chicester.
- Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Bambang Srigandono, penerjemah. Edisi kedua. Semarang: IKIP Semarang Press. Terjemahan dari: The Biosynthesis of Secondary Metabolites.

- Himayanti, T., Heli S.H.M., Yoni F.S. 2010. Variasi Mutasi Gen ATPase 6 mtDNA Manusia pada Populasi Dataran Rendah. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, ISSN 2087-4712.
- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., Chen, G. 2010. Biodiesel Production by Microalgae. *Biotechnology, Elsevier*, Volume **87**, 38-46.
- Inthe, I.C.E. 2010. Efek Pencahayaan terhadap Biomassa *Nannochloropsis* sp. pada Reaktor Pelat Datar. Skripsi. Program Studi Teknologi Bioproses, Fakultas Teknik Universitas Indonesia.
- Isnansetyo, A dan Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur phytoplankton dan zooplankton pakan alami untuk pembenihan organisme laut. Yogyakarta: Kanisius.
- Juniarti, O.D., dan Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa kimia, uji toksisitas (BSLT) dan antioksidan (*1,1-diphenyl-2-pikrilhydrazyl*) dari ekstrak daun saga. *Makara Sains*. 13(1):50-54.
- Ketaren, S. 1986. Teknologi Pengolahan Minyak dan Lemak Pangan. Jakarta: UI-Press .
- Kirrolia, A., Narsi R.B dan Namita S. 2011. Salinity as a factor affecting the physiological and biochemical traits of *Scenedesmus quadricauda*. *J. Algal Biomass Utln*. 2 (4): 28– 34.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami-Penangkal Radikal Bebas, Sumber, Manfaat, Cara Penyediaan dan Pengolahan*. Surabaya: Trubus Agrisarana.
- Kumar, H.D dan Singh H.N.A. 1976. *Textbook of Algae*, Second edition. New Delhi: Affiliated East West PUT ltd.
- Lee, E.R. 1989. *Phycology*, Second edition. Cambridge: Cambridge University Press.
- Lee, Joon-Baek dan Bo-Young Kim. 2002. Growth Characteristics of Five Microalgal Species Isolated from Jeju Island and Four Microalgal Stock Strains in Hatchery. *Algae* Volume **17**(2): 117-125.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Koensoemardiyah, penerjemah. Semarang: IKIP Press. Terjemahan dari: Biosynthesis of Natural Products.

- Marxen, K., H. V. Klaus, L. Sebastian, H. Ralf, R. Andreas, P. H. Ulf. 2007. Full Research Paper Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*. Vol. 7 : 2080-2095.
- Mayasari, E. 2012. *Efek Penambahan Fe<sup>2+</sup> dan Mn<sup>2+</sup> Terhadap Produktifitas  $\beta$ -Karoten oleh Fitoplankton *Dunaliella salina*, *Isocrysis galbana*, dan *Chlorella vulgaris**. Tesis. Program Magister Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Molyneux, P. 2004. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant. *Songklanakar J. Sci. Technol.* 26(2), 212.
- Movahedinia, A. dan Mohsen H. 2012. Antioxidant Activity and Total Phenolic Content in Two Alga Species from the Persian Gulf in Bushehr Province, Iran. *International Journal of Science and Research (IJSR) Impact Factor*. 3.358
- Nurachman, Z., Hartati., Syahfitri A., Anward, E.E., Novirani G., Mangindaan, B., Gandasasmita, S., Syah, Y.M., Panggabean, L.M.G., Suantika, G. 2012. Oil productivity of the tropical marine diatom *Thalassiosira* sp. *Bioresource Technology*, 108, 240 – 244.
- Ohama, T dan S. Miyachi. 1992. *Microalgae Biotechnology*. New York: Scientific publishing.
- Pine Stanley, H. 1988. *Kimia Organik 2* diterjemahkan oleh Roehyati Joedodibroto dan Sasanti W. Purbo Hadiwidjoyo. Terbitan ke empat. Bandung: ITB.
- Pokorni. 2001. *Antioxidant in Food; Practical Applications*. New York: CRC Press.
- Prakash, A., Rigelhof, F., Miller. 2001. Antioxidant Activity. *Medalliaon Laboratories Analytical Progress* 10(2): 8
- Priya, C.P dan Murugesan S. 2014. Antioxidant Activity of Methalonic Extract of *C.minutus* and *C.saccharophila*. *World Journal of Pharmaceutical Research* 3 (2), 2462-2467
- Rohmatussolihat. 2009. Antioksidan Penyelamat Sel-Sel Tubuh Manusia. *BioTrends*.; 4 (1),5-9.

- Romimohtarto, K. 2004. *Meroplankton Laut : Larva Hewan Laut yang Menjadi Plankton*. Jakarta : Djambatan.
- Rostini, I. 2007. Kultur Fitoplankton (*Chlorella* sp. dan *Tetraselmis chuii*) pada Skala Laboratorium. Karya Ilmiah. Universitas Padjajaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jatinangor.
- Salisbury, B.F. dan Ross W.C. 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid I*. Bandung: ITB.
- Saragosti, E., Tchernov D., Katsir A., Shaked Y. 2010. Extracellular production and degradation of superoxide in the coral *Stylophora pistillata* and cultured Symbiodinium. *PLoS One* 5(9):e12508.
- Sasmito, B.B., Sri K., Susinggih W., Hardoko. 2014. Effect of Crystallization and Maceration Time on Antioxidant Activity of Ethanolic Extract from Brown Algae *Sargassum* sp. *International Journal of Advanced Research* , Volume 2, Issue 2,861-867.
- Sato, V. 1991. The Development of Phytoplankton Production System as a Support Base for Finfish Larval Rearing. *Research in Proceedings Of a U.S.A-Asia Workshop Rotifer and Microalga Culture Systems*, Honohulu Hawaii: 257-273.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae. Laboratory NRE., US Department of Energy.
- Susilowati, R., dan S. Amini. 2010. Kultivasi Mikrolaga *Botryococcus braunii* Sebagai Bahan Energi Alternatif Dengan Sistem *Indoor* dan *Outdoor*. *Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*.
- Teppema, Luc J., Hans Bijl, Raymonda R. Romberg and Albert Dahan. 2006. Antioxidants reverse depression of the hypoxic ventilator response by acetazolamide in man. *J Physiol* 572.3, 849–856.
- Thorton, A., Thomas W., Onno B., Bowen Z., Dick M. van der Sar., Kundan K., Maxim P., Maria R., Valeriu S., Jens R., Julia Z., Alicja S., Joanna Z., Martin van der S., Vincent T., Frits V. 2010. Modeling and optimization of algae growth.
- UTEX *The Culture Collection of Algae*. Available from: <http://www.sbs.utexas.edu/utex/algaeDetail.aspx?algaeID=2696> [Accessed 1 Mei 2014].

- Vadlapudi, V. 2012. Medicinal Plants as Antioxidant Agents: Understanding Their Mechanism of Action and Therapeutic Efficacy. ISBN: 978-81-308-0509-2.
- Vonshak, A. 1988. *Porphyridium*. Dalam Borowitzka MA dan Borowitzka MJ, editor. *Microalgal Biotechnology*. New York: Cambridge University Press.
- Widiyanti, R. 2009. Analisis kandungan senyawa fenol. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Winarsih, H. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas (5nd ed.)*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wiseman, A. 2005. Functional-food protected by biomonitoring of reactive oxygen species (ROS). *Trends Food Sci Technol*. 16: 166–168.
- Yulianto, K. 1989. Pengaruh Penurunan Salinitas terhadap Laju Fotosintesa Algae Hijau (*Caulerpa serrulata* Forks) J. Agardh dan *Valonia Aegagropila* C.Agardh. ISBN : 979-8093
- Zhang, J., Volker A. R. H, Xuepiao Sun, Kaijun Chang, Daobiao Pang. 2008. Morphology and phylogenetic position of a trebouxiophycean green alga (Chlorophyta) growing on the rubber tree, *Hevea brasiliensis*, with the description of a new genus and species. *J. Phycol.*, 43(2): 185–193.
- Zhan-Ping Zhou., Lu-Ning Liu., Xiu-Lan Chen., Jin-Xia Wang., Min Chen., Yu-Zhoung Zhan., Bai-Cheng Zhou. 2005. Factors that Effect Antioxidant Activity of C-Phycocyanins from *Spirulina plantesis*. *Journal of Food Biochemistry* 29 313–322.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1. Data Pertumbuhan Sel Mikroalga

**Tabel 1.1.** Pertumbuhan Kepadatan Sel *Porphyridium cruentum* Kultivasi di Dalam Ruangan

Hari	P1	P1	P2	P2	P3	P3	Mean	Mean
	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log (x10 <sup>4</sup> )	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log
1	40	5,60	30	5,47	37	5,56	35,67	5,54
2	85	5,92	73	5,86	85	5,92	81	5,90
3	89	5,94	80	5,90	89	5,94	86	5,93
4	93	5,96	87	5,93	93	5,96	91	5,95
5	98	5,99	94	5,97	95	5,98	95,67	5,98
6	127	6,10	104	6,01	105	6,02	112	6,04
7	128	6,10	104	6,01	109	6,03	113,67	6,05
8	127	6,10	105	6,02	110	6,04	114	6,05
9	105	6,02	110	6,04	120	6,07	111,67	6,04
10	109	6,03	112	6,05	125	6,09	115,33	6,06
11	113	6,05	114	6,06	130	6,11	119	6,07
12	117	6,06	116	6,06	135	6,13	122,67	6,08
13	125	6,09	132	6,12	136	6,13	131	6,11
14	180	6,25	150	6,17	173	6,23	167,67	6,22

Keterangan:

P1 = *Porphyridium cruentum* ulangan pertama

P2 = *Porphyridium cruentum* ulangan kedua

P3 = *Porphyridium cruentum* ulangan ketiga



**Tabel 1.2.** Pertumbuhan Kepadatan Sel *Porphyridium cruentum* Kultivasi di Luar Ruangan

Hari	P1	P1	P2	P2	P3	P3	Mean	Mean
	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log
1	32	5,50	36	5,55	61	5,78	43	5,61
2	76	5,88	55	5,74	97	5,98	76	5,87
3	133	6,12	63	5,79	120	6,07	105,33	5,99
4	136	6,13	79	5,89	132	6,12	115,67	6,05
5	139	6,14	82	5,91	139	6,14	120	6,06
6	142	6,15	85	5,92	146	6,16	124,33	6,08
7	147	6,16	88	5,94	155	6,19	130	6,09
8	157	6,19	118	6,07	168	6,22	147,67	6,16
9	159	6,20	123	6,08	169	6,23	150,33	6,17
10	171	6,23	150	6,17	178	6,25	166,33	6,22
11	179	6,25	182	6,26	206	6,31	189	6,27
12	187	6,27	195	6,29	212	6,32	198	6,29
13	195	6,29	208	6,31	218	6,33	207	6,31
14	203	6,30	221	6,34	224	6,35	216	6,33

Keterangan:

P1 = *Porphyridium cruentum* ulangan pertama

P2 = *Porphyridium cruentum* ulangan kedua

P3 = *Porphyridium cruentum* ulangan ketiga

**Tabel 1.3.** Pertumbuhan Kepadatan Sel *Chlorella* sp. Kultivasi di Dalam Ruang

Hari	C1	C1	C2	C2	C3	C3	Mean	Mean
	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log
1	35	5,54	30	5,48	28	5,45	31	5,49
2	97	5,98	45	5,65	60	5,78	67,33	5,80
3	185	6,26	117	6,07	106	6,03	136	6,12
4	188	6,27	129	6,11	142	6,15	153	6,18
5	196	6,29	154	6,19	156	6,19	168,67	6,22
6	258	6,41	209	6,32	170	6,23	212,33	6,32
7	284	6,45	226	6,35	184	6,26	231,33	6,35
8	300	6,47	240	6,38	230	6,36	256,67	6,40
9	401	6,60	261	6,41	276	6,44	312,67	6,48
10	427	6,63	317	6,50	312	6,49	352	6,54
11	431	6,63	430	6,30	350	6,54	403,67	6,60
12	439	6,64	437	6,64	381	6,58	419	6,62
13	450	6,66	446	6,65	400	6,60	432	6,64
14	473	6,67	491	6,70	417	6,62	460,33	6,66

Keterangan:

C1 = *Chlorella* sp. ulangan pertama

C2 = *Chlorella* sp. ulangan kedua

C3 = *Chlorella* sp. ulangan ketiga

**Tabel 1.4.** Pertumbuhan Kepadatan Sel *Chlorella* sp. Kultivasi di Luar Ruangan

Hari	C1	C1	C2	C2	C3	C3	Mean	Mean
	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log	sel/ml (x10 <sup>4</sup> )	Log
1	29	5,46	34	5,53	31	5,49	31,33	5,49
2	112	6,04	50	5,69	44	5,64	68,67	5,79
3	144	6,05	140	6,15	129	6,11	137,67	6,14
4	152	6,18	161	6,21	142	6,15	151,67	6,18
5	203	6,31	185	6,27	173	6,24	187	6,27
6	254	6,40	209	6,32	204	6,31	222,33	6,34
7	306	6,48	234	6,37	235	6,37	258,33	6,41
8	357	6,55	240	6,38	241	6,38	279,33	6,44
9	407	6,61	207	6,31	285	6,45	299,67	6,46
10	458	6,66	314	6,49	298	6,47	356,67	6,54
11	608	6,78	309	6,48	460	6,66	459	6,64
12	611	6,79	311	6,49	462	6,66	461,33	6,65
13	614	6,79	313	6,49	464	6,67	463,67	6,65
14	619	6,80	315	6,50	466	6,67	466,67	6,66

Keterangan:

C1 = *Chlorella* sp. ulangan pertama

C2 = *Chlorella* sp. ulangan kedua

C3 = *Chlorella* sp. ulangan ketiga

## Lampiran 2. Data Absorbansi Ekstrak Mikroalga dan Vitamin C

**Tabel 2.1** Absorbansi Ekstrak Mikroalga *Porphyridium cruentum* di Dalam Ruang

Abs	800	800	400	400	200	200	100	100	50	50	25	25
P1	0,4485	0,5024	0,6224	0,6275	0,6598	0,6720	0,7427	0,7236	0,7434	0,7425	0,7667	0,8415
P1	0,1554	0,1189	0,1223	0,1206	0,1021	0,1000	0,0967	0,0855	0,0907	0,0837	0,0810	0,0914
P2	0,5687	0,4265	0,6071	0,5574	0,6412	0,6324	0,7207	0,7196	0,7391	0,6100	0,7328	0,8108
P2	0,1717	0,1658	0,1212	0,1214	0,1037	0,1101	0,0935	0,0913	0,0853	0,0951	0,0832	0,0986
P3	0,5779	0,5277	0,6948	0,6642	0,7294	0,7095	0,8444	0,8126	0,8236	0,7774	0,8185	0,8397
P3	0,1455	0,1460	0,1214	0,1245	0,1070	0,1056	0,1014	0,0973	0,0916	0,0932	0,0930	0,0993

BLANKO A	0,7725	0,8238	0,8681
BLANKO B	0,0918	0,0878	0,0864

Keterangan : P = *Porphyridium cruentum*

**Tabel 2.2** Absorbansi Ekstrak Mikroalga *Porphyridium cruentum* di Luar Ruang

Abs	800	400	400	200	200	100	100	50	50	25	25
P1	0,5402	0,6980	0,6992	0,7684	0,8027	0,8430	0,8079	0,8425	0,8115	0,8116	0,8361
P1	0,1411	0,1279	0,1187	0,1040	0,1051	0,1039	0,0988	0,0980	0,0959	0,1168	0,0933
P2	0,7047	0,7415	0,8903	0,7764	0,8478	0,8413		0,9071	0,8125	0,8511	0,8562
P2	0,1513	0,1357	0,1174	0,1032	0,1009	0,1024			0,1084	0,0974	0,0946
P3	0,6525	0,8297	0,7580	0,7778	0,8034	0,8066			0,8528	0,8661	0,8283
P3	0,1232	0,1238	0,1107	0,1039	0,1009	0,971			0,1082	0,0961	0,0928

BLANKO A	0,8367	0,8147	0,8680	0,8709
BLANKO B	0,0895	0,0891	0,0901	0,0891

Keterangan : P = *Porphyridium cruentum*

**Tabel 2.3** Absorbansi Ekstrak Mikroalga *Chlorella* sp di Dalam Ruangan

Abs	800	800	400	400	200	200	100	100	50	50	25	25
C1	0,4058	0,4418	0,5809	0,4678	0,4748	0,6649	0,6871	0,4838	0,7333	0,6214	0,6276	0,6621
C1	0,2220	0,2017	0,1375	0,1491	0,1104	0,1079	0,0907	0,0922	0,0882	0,0867	0,0828	0,0853
C2	0,4902	0,3949	0,6020	0,6096	0,6043	0,6312	0,6293	0,6290	0,7018	0,7096	0,7123	0,7205
C2	0,1825	0,1930	0,1313	0,1330	0,1062	0,1027	0,0909	0,0900	0,0829	0,0819	0,0783	0,0978
C3	0,4063	0,4899	0,5963	0,5804	0,5069	0,6582	0,6887	0,5209	0,6865	0,6660	0,7067	0,7070
C3	0,1971	0,2022	0,1290	0,1372	0,1067	0,1072	0,0882	0,0914	0,0814	0,0865	0,0909	0,0943

BLANKO A	0,7379	0,7280
BLANKO B	0,0676	0,0730

Keterangan : C = *Chlorella* sp.

**Tabel 2.4** Absorbansi Ekstrak Mikroalga *Chlorella* sp di Luar Ruangan

Abs	800	800	400	400	200	200	100	100	50	50	25	25
C1	0,6044	0,6435	0,7905	0,7025	0,8501	0,8453	0,8028	0,8563	0,7815	0,8222	0,8531	0,8238
C1	0,1620	0,1698	0,1403	0,1403	0,1161	0,1176	0,1043	0,1023	0,0984	0,0961	0,0940	0,0955
C2	0,6917	0,6939	0,7040	0,7975	0,8091	0,8047	0,8065	0,8210	0,8102	0,8257	0,8436	0,8454
C2	0,1455	0,1443	0,1013	0,0959	0,0820	0,0816	0,0990	0,0949	0,0896	0,0826	0,0904	0,0902
C3	0,6996	0,7088	0,7521	0,7653	0,8000	0,8032	0,8001	0,8203	0,8106	0,8338	0,8380	0,8442
C3	0,1441	0,1429	0,1047	0,1050	0,0866	0,0996	0,0930	0,0948	0,0901	0,0982	0,0919	0,0907

BLANKO A	0,8072	0,9181	0,9012	0,9308	0,9059
BLANKO B	0,0585	0,0670	0,0695		

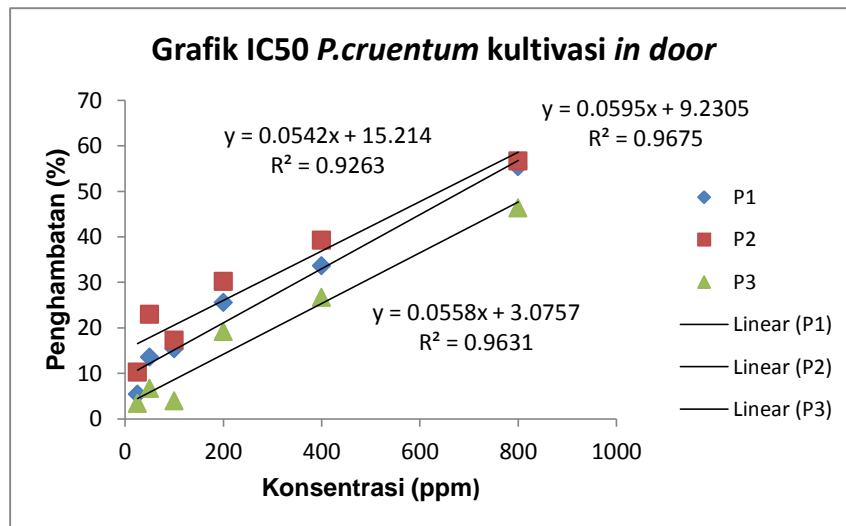
Keterangan : C = *Chlorella* sp.

**Tabel 2.5** Absorbansi Vitamin C

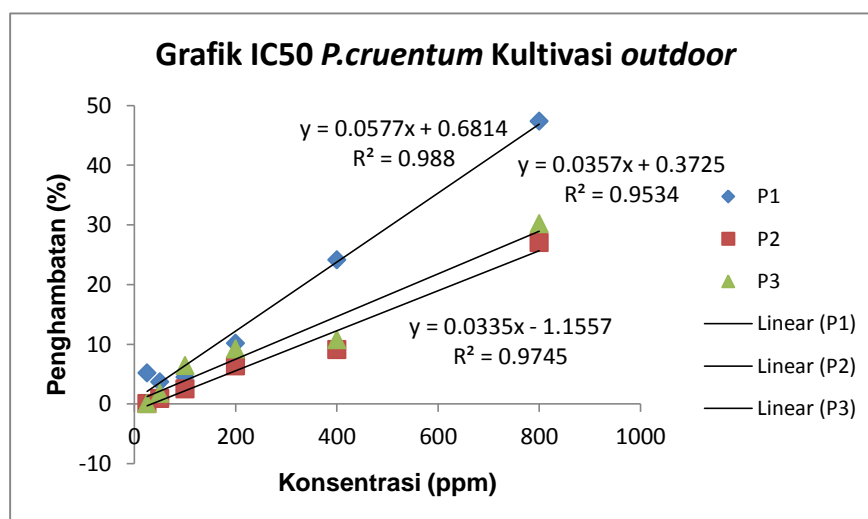
Abs	2	2	4	4	8	8	16	16	32	32
Vit. C+DPPH	0,5404	0,5348	0,5080	0,5472	0,4930	0,4646	0,2892	0,2559	0,1156	0,1136
Vit.C+metanol	0,0834	0,0846	0,0843	0,0848	0,0859	0,0858	0,0859	0,0862	0,0860	0,0863

BLANKO A	0,8268	0,8207	0,8514	0,8144
BLANKO B	0,0836	0,0816	0,0821	0,0838

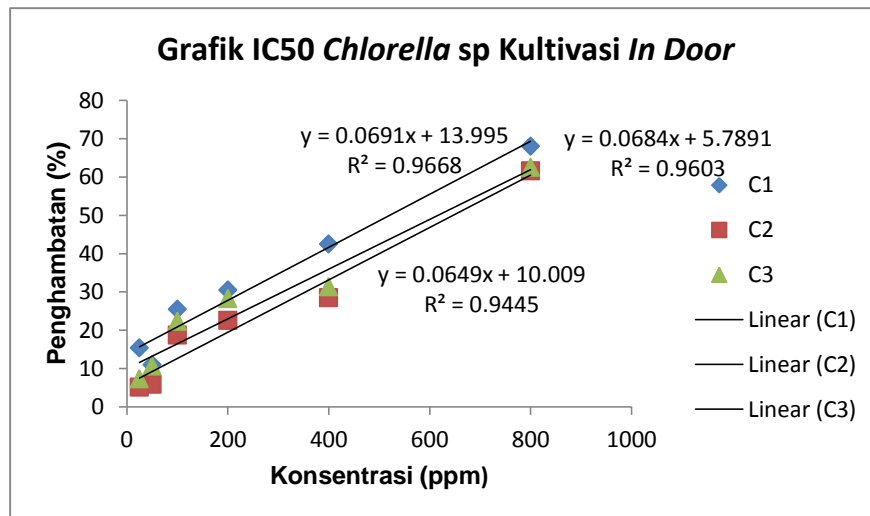
### Lampiran 3. Grafik IC<sub>50</sub> Ekstrak Etanol Mikroalga dan Vitamin C



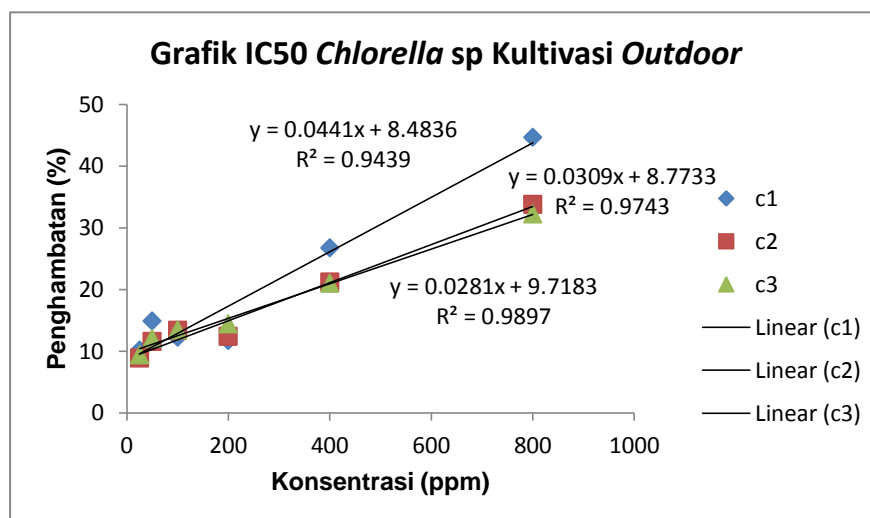
**Gambar 3.1.** Grafik IC<sub>50</sub> ekstrak etanol *P.cruentum* kultivasi *indoor*



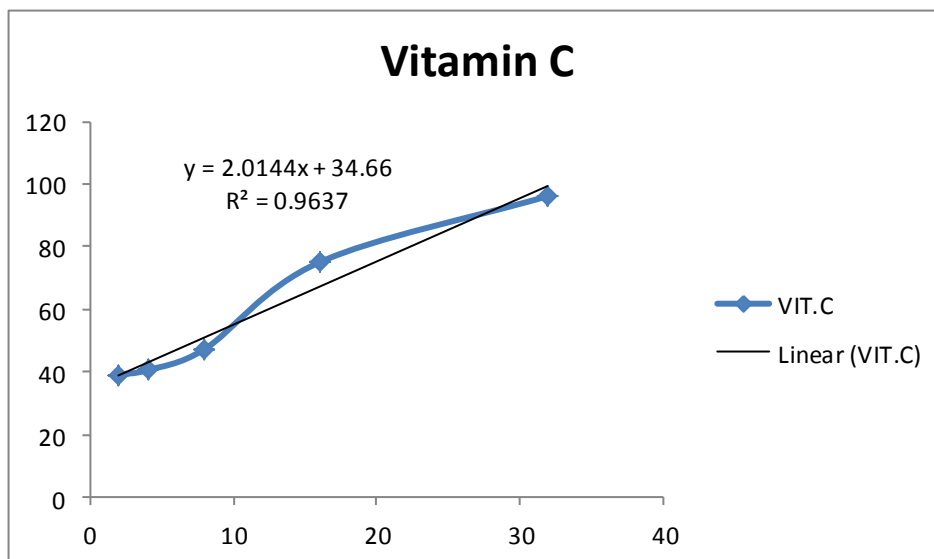
**Gambar 3.2.** Grafik IC<sub>50</sub> ekstrak etanol *P.cruentum* kultivasi *outdoor*



**Gambar 3.3.** Grafik IC<sub>50</sub> ekstrak etanol *Chlorella* sp. kultivasi *indoor*



**Gambar 3.4.** Grafik IC<sub>50</sub> ekstrak etanol *Chlorella* sp. kultivasi *outdoor*



**Gambar 3.5.** Grafik  $IC_{50}$  Vitamin C



#### Lampiran 4. Hasil Perhitungan SPSS

**Tabel 4.1.** Uji *General Linier Model Univariate* Pertumbuhan Mikroalga

##### Hipotesis yang diujikan:

1. Faktor Jenis Mikroalga

H<sub>0</sub>: Tidak terdapat perbedaan pertumbuhan antara jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

H<sub>1</sub>: Terdapat perbedaan pertumbuhan antara jenis *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

2. Faktor Kultivasi

H<sub>0</sub>: Tidak terdapat perbedaan pertumbuhan antara mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan

H<sub>1</sub>: Terdapat perbedaan pertumbuhan antara mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan.

##### Kriteria Pengujian:

Terima H<sub>0</sub>: nilai signifikansi ( $p$ ) >  $\alpha$ (0,05)

Terima H<sub>1</sub>: nilai signifikansi ( $p$ ) <  $\alpha$ (0,05)

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable:Kepadatan\_sel

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	293552.619 <sup>a</sup>	2	146776.310	13.004	.000
Intercept	2142288.167	1	2142288.167	189.807	.000
Spesies	284525.543	1	284525.543	25.209	.000
Ruangan	9027.076	1	9027.076	.800	.375
Error	598193.484	53	11286.670		
Total	3034034.271	56			
Corrected Total	891746.103	55			

a. R Squared = .329 (Adjusted R Squared = .304)

**Kesimpulan:**

Taraf signifikansi yang digunakan yaitu 0,05. Berdasarkan hasil diatas didapatkan nilai ( $p$ ) untuk faktor spesies adalah 0,000.  $H_0$  ditolak yaitu terdapat perbedaan pertumbuhan antara spesies *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp. Nilai  $p$  pada faktor kultivasi yaitu 0,375.  $H_0$  diterima yaitu tidak terdapat perbedaan pertumbuhan antara mikroalga kultivasi dalam ruangan dan kultivasi luar ruangan.

**Tabel 4.2.** Uji *General Linier Model Univariate* Aktivitas Antioksidan Mikroalga

**Hipotesis yang diujikan:**

## 1. Faktor Jenis Mikroalga

$H_0$ : Tidak terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  antara spesies *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

$H_1$ : Terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  antara spesies *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

## 2. Faktor Kultivasi

$H_0$ : Tidak terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  antara mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan

$H_1$ : Terdapat perbedaan nilai  $IC_{50}$  antara mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan.

**Kriteria Pengujian:**

Terima  $H_0$ : nilai signifikansi ( $p$ )> $\alpha$ (0,05)

Terima  $H_1$ : nilai signifikansi ( $p$ )< $\alpha$ (0,05)

### Tests of Between-Subjects Effects

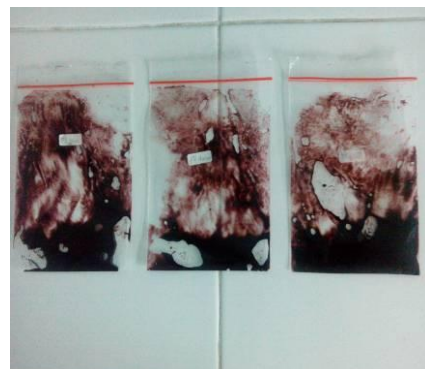
Dependent Variable: Nilai\_IC50

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.044E6 <sup>a</sup>	2	522103.267	10.922	.004
Intercept	1.093E7	1	1.093E7	228.671	.000
Spesies	18213.590	1	18213.590	.381	.522
Kultur	1025992.945	1	1025992.945	21.463	.001
Error	430234.171	9	47803.797		
Total	1.241E7	12			
Corrected Total	1474440.706	11			

a. R Squared = .708 (Adjusted R Squared = .643)

#### Kesimpulan:

Taraf signifikansi yang digunakan yaitu 0,05. Berdasarkan hasil diatas didapatkan nilai  $p$  untuk faktor kultivasi adalah 0,001.  $H_0$  ditolak yaitu terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan. Nilai  $p$  pada faktor jenis adalah 0,522.  $H_0$  diterima yaitu tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara spesies *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

**Lampiran 5. Foto Alat, Bahan, dan Kegiatan Penelitian****Gambar 5.1.** Refraktometer**Gambar 5.2.** Rotator Evaporator**Gambar 5.3.** 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl**Gambar 5.4.** Haemocytometer**Gambar 5.5.** Pupuk Conwy**Gambar 5.6.** Biomassa *Porphyridium cruentum* indoor



**Gambar 5.7.** Hand counter



**Gambar 5.8.** Termometer



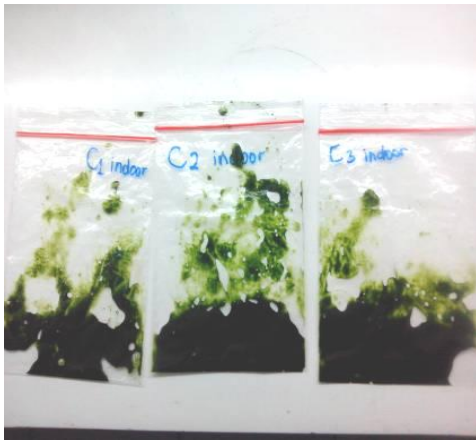
**Gambar 5.9.** Sentrifuse



**Gambar 5.20.** Mikroskop



**Gambar 5.21.** Timbangan



**Gambar 5.10.** Biomassa *Chlorella* sp. indoor



**Gambar 5.11.** Biomassa *Chlorella* sp outdoor



**Gambar 5.12.** Biomassa *Porphyridium cruentum* outdoor



**Gambar 5.13.** Biomassa yang terbentuk setelah disentrifugasi



**Gambar 5.14.** Hasil pemekatan ekstrak



**Gambar 5.15.** *Chlorella* sp. kultivasi dalam ruangan pada hari ke-14



**Gambar 5.16.** Ekstrak etanol mikroalga setelah ditambahkan DPPH

## SURAT IZIN PENELITIAN



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS NEGERI JAKARTA  
**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM**  
Kampus B, Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun Jakarta 13220  
Telepon : (021) 4894909 Fax. : (021) 4894909 E-mail : [dekanfmipa@unj.ac.id](mailto:dekanfmipa@unj.ac.id)

*Building  
Future  
Leaders*

Nomor : 106/6.FMIPA/DT/2014  
Hal : Permohonan ijin Melaksanakan  
Observasi Penelitian Tentang Mikroalga

12 Februari 2014

Yth. Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan  
Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan  
Jl. KS. Tubun Petamburan VI Jakarta  
di  
Jakarta.

Dengan hormat,

Sehubungan dengan persyaratan untuk mendapatkan gelar Sarjana pada Institusi kami maka dengan ini kami memohon kepada Bapak/Ibu Kepala Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, untuk memberi kesempatan kepada mahasiswa kami atas nama:

No	Nama	No Reg.	Judul
1.	Musdalifah	3425102445	Konsultasi Judul dengan Pembimbing di Tempat Penelitian dan Langkah-Langkah Selanjutnya
2.	Monika Rafaelina	3425102451	

Untuk melaksanakan Penelitian agar mendapatkan kompetensi yang harus dimiliki sebagai Sarjana nantinya. Adapun penelitian tersebut akan dilaksanakan pada Bulan Februari 2014.

Merupakan suatu kehormatan bagi kami atas kesempatan yang diberikan semoga hal ini bisa memberikan manfaat bagi kedua pihak.

Demikian permohonan ini kami sampaikan atas perhatian dan kerjasamanya yang baik diucapkan terima kasih.



Dr. Mukhtasari, M.Si.  
NIP. 196405111989032001

**Tembusan:**

1. Dekan
2. Kaprodi Biologi
3. Kasubag Pendidikan
4. Mahasiswa ybs.



## SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Dengan ini saya yang bertanda tangan dibawah ini, mahasiswa Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta:

Nama : Monika Rafaelina  
No. Registrasi : 3425101451  
Jurusan : Biologi  
Prodi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang saya buat dengan judul “Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.” adalah:

1. Dibuat dan diselesaikan oleh saya sendiri, berdasarkan data yang diperoleh pada bulan Juni – Agustus 2014.
2. Bukan merupakan duplikat skripsi yang telah dibuat oleh orang lain atau jiplakan karya tulis orang lain dan bukan terjemahan karya tulis orang lain.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan saya bersedia menanggung segala akibat yang timbul jika pernyataan saya ini tidak benar.

Jakarta, Januari 2015  
Yang membuat pernyataan

Monika Rafaelina

## RIWAYAT HIDUP



**Monika Rafaelina.** Panggilan monik lahir di Tangerang pada tanggal 2 Juni 1992 dari pasangan suami istri Bapak Ignatius Wahyudi dan Ibu Sri Maryati. Penulis adalah anak kedua dari dua bersaudara. Penulis sekarang bertempat tinggal di Jalan Batu Raden V Nomor 31, RT 008

RW 012, Perumnas 2, Karawaci, Tangerang. Pendidikan yang ditempuh oleh penulis yaitu SD Strada Slamet Riyadi II lulus pada tahun 2004, SMP Strada Slamet Riyadi lulus pada tahun 2007, SMA Negeri 5 Tangerang lulus pada tahun 2010 dan mulai tahun 2010 mengikuti program S1 Biologi di Universitas Negeri Jakarta melalui jalur SNMPTN.

Selama dalam masa perkuliahan, penulis mengikuti berbagai kegiatan seperti CABI (Cakrawala Biologi), dan KKL (Kuliah Kerja Lapangan). Penulis pernah mengikuti seminar “Pelatihan Metode Penelitian, Konservasi Laut, dan Restorasi Terumbu Karang” pada tahun 2012. Dalam bidang akademik, penulis merupakan asisten laboratorium untuk mata kuliah Kultur Jaringan untuk S2 pada tahun 2013 dan S1 pada tahun 2014. Penulis juga telah melakukan Praktek Kerja Lapangan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP) pada tahun 2013.