

Ekstraksi Protein dari Rhodophyta dan Chlorophyta Dari Perairan Pulau Pari Sebagai Alternatif Antioksidant

Elvi Kustiyah^{*1}, Bungaran Saing², Hernowo Widodo³, Viriya Piti⁴
^{1,2,3,4} Teknik Kimia, Fakultas Teknik, UBJ, Jakarta, Indonesia
e-mail: ^{*1}elvikustiyah@gmail.com

Abstrak

Indonesia merupakan negara kepulauan yang kaya akan sumber daya hayati kelautan dan berpotensi untuk dikembangkan dan dioptimalkan. Salah satu sumber daya hayati kelautan yang melimpah di Indonesia adalah alga. Alga merupakan protista mirip tumbuhan. Alga memiliki beberapa senyawa penting, diantaranya protein, karbohidrat, lemak, mineral dan unsur lain yang bermanfaat. Protein yang terkandung dalam alga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai zat antioksidan. Dalam penelitian ini dilakukan pengujian kadar protein pada alga merah, dan hijau dengan menggunakan metode lowry dan pengujian aktifitas antioksidan terhadap ekstrak alga merah, dan hijau dengan metode Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH). Ekstraksi alga dilakukan dengan cara maserasi yaitu perendaman sampel dalam suhu rendah dengan larutan fosfat buffer saline (PBS) pH 7. Dari hasil ekstraksi dapat disimpulkan bahwa pada alga merah (Rhodophyta) memiliki kandungan protein paling tinggi sebesar $5,115 \pm 0,126$ % dan kadar protein paling rendah pada alga hijau (Chlorophyta) sebesar

$1,686 \pm 0,430$ %. Dan dari hasil Uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa semua alga positif menunjukkan aktifitas antioksidan namun alga hijau (Chlorophyta) memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi sebesar 71.5946 ± 0.01612 % dengan nilai IC₅₀ 1.6114.

Kata kunci— Rhodophyta, chlorophyte, maserasi

Abstract

Indonesia has millions island and big part of Indonesia is sea that is rich in marine biological resources and has the potential to be developed and optimized. One of the abundant marine resources in Indonesia is algae. Algae are plant-like protists. Algae have several important compounds, including protein, carbohydrates, fats, minerals and other useful elements. Proteins contained in algae have the potential to be used as antioxidants. In this study, the levels of protein in red and green algae were tested by using the lowry method and testing the antioxidant activity of red and green algae extracts using the Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) method. Algae extraction was done by maceration, which is soaking the sample in low temperature with phosphate buffer saline (PBS) pH 7. From the extraction results it can be concluded that the red algae (Rhodophyta) has the highest protein content of $5.115 \pm 0.126\%$ and the lowest protein content in green algae (Chlorophyta) as big as $1.686 \pm 0.430\%$. And from the results of the antioxidant activity test showed that all positive algae showed antioxidant activity but

the green algae (Chlorophyta) had the highest antioxidant activity of $71.5946 \pm 0.01612\%$ with IC50 value 1.6114.

Keywords— *Rhodophyta, chlorophyte, maceration*

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang kaya akan sumber daya hayati kelautan dan berpotensi untuk dikembangkan dan dioptimalkan. Salah satu sumber daya hayati kelautan yang melimpah di Indonesia adalah alga. Alga yang berukuran besar (makro alga) tergolong dalam tiga kelompok, yaitu alga hijau (Chlorophyta), alga coklat (Phaeophyta), dan alga merah (Rhodophyta)[1]. Alga telah banyak memberikan manfaat dalam industri makanan, kosmetik, farmasi dan kedokteran. Alga memiliki beberapa senyawa penting, diantaranya protein, karbohidrat, lemak, mineral dan unsur lain yang bermanfaat [2]

Protein merupakan senyawa organik kompleks, tersusun atas banyak asam amino yang mengandung unsur-unsur C (karbon), H (hydrogen), O (oksigen) dan N (nitrogen) yang tidak dimiliki oleh lemak atau karbohidrat [3]. Protein berfungsi sebagai zat pembangun, zat pengatur, dan sumber energi untuk tubuh. Kandungan protein rumput laut hijau dan merah berkisar 10-30% dari berat kering [4][5]. Protein yang terkandung dalam alga berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai zat antioksidan.[6]

Antioksidan adalah zat yang dapat menghambat proses oksidasi[7]. Oksidasi adalah suatu reaksi kimia yang dapat menghasilkan radikal bebas.[8] Radikal bebas adalah senyawa yang tidak stabil karena memiliki elektron yang tidak berpasangan dan mencari pasangan elektron dengan menyerang molekul lain sehingga menyebabkan rusaknya struktur molekul yang diserang. Protein lipida dan DNA dari sel manusia yang sehat merupakan sumber pasangan elektron yang baik. Jika sel manusia ini diserang oleh radikal bebas hasil oksidasi tersebut maka dapat menyebabkan kerusakan protein dan DNA, kanker, penuaan, dan penyakit lainnya.[9].

Selanjutnya untuk melihat kadar antioksidan yang metode yang sering digunakan oleh penelitian sebelumnya adalah pengujian dengan menggunakan metode DPPH (1,1-Diphenyl-2 Pycrylhydrazyl). [10][11]. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi kandungan protein dalam alga merah (rhodophyta) dan hijau (chloropyta) dari Perairan Pantai Pulau Pari, Kepulauan Seribu dan potensinya sebagai zat antioksidan.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Sampling Alga

Sampel diambil dari pantai Kepulauan Seribu. Makroalga yang dikoleksi kemudian dicuci dengan menggunakan air tawar, dibersihkan dari pengotor. Untuk menjaga kesegaran makroalga, sampel kemudian disimpan dalam *cool box* yang berisi es. Sampel - sampel tersebut kemudian disimpan dalam cold storage (suhu -20°C) hingga sampel diekstraksi.

2.2 Ekstraksi Protein

Ekstraksi protein dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan pelarut Phosphat Buffer Saline(PBS). Sampel alga yang sudah dicuci, dikeringkan dan dihaluskan diambil sebanyak 10 gr dimasukkan ke dalam erlenmeyer. ditambahkan 60 ml

Phosphat buffer saline(PBS) dan diaduk. Kemudian sampel dimasukan ke dalam botol dan disimpan dalam refrigerator selama 24 jam, pada temperatur 4°C. Campuran lalu disaring dengan penyaring yang dibuat dari kain kasa untuk mengeluarkan debris kasar. Filtrat yang diperoleh disentrifus pada kecepatan 1000 rpm selama 15 menit pada temperatur 4°C atau sampai sisa- sisa debris mengendap. Supernatan hasil sentrifus ditambahkan PBS sampai volumenya 100 ml lalu disimpan kembali di refrigerator.

2.3 Uji Kadar Protein Total

Uji kadar protein total menggunakan metode Lowry dengan menggunakan larutan standar bovine serum albumin (BSA). Pertama masukkan kedalam tabung reaksi : 0(blanko) ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 dan 1 ml larutan protein standar (BSA). Lalu tambahkan air sampai volume total masing-masing 4 ml. Kemudian tambahkan 5,5 ml larutan Lowry B ke dalam masing-masing tabung, kocok ,biarkan selama 10-15 menit. Selanjutnya tambahkan 0,5 ml larutan Lowry A, kocok merata dengan cepat sesudah penambahan, biarkan selama \pm 30 menit sampai terbentuk warna biru. Lalu ukur absorbansinya pada panjang gelombang 650 nm. Kemudian buat kurva protein standart. Hitung kadar tiap sampel dengan menggunakan persamaan yg didapat dari kurva protein standart.

2.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji kadar antioksidan menggunakan Metode DPPH (1,1-Diphenyl-2-Pycrylhydrazyl). Sampel protein sebanyak 5ml dimasukan ke dalam cawan kaca dan dikeringkan dalam drying oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Kemudian sampel kering ditimbang lalu dilarutkan dengan 1 ml PBS. Lalu sampel dimasukkan ke tabung reaksi dengan pengulangan 2 kali(duplo) sebanyak 4 ml (1 ml sampel + 3 ml metanol). Untuk blanko digunakan quarsetin. Kemudian tambahkan 1 ml larutan DPPH 1 mM. Konsentrasi DPPH menjadi 0,2 mM karena penambahan volume hingga 5 mL. Sampel lalu diinkubasi pada 37° C selama 30 menit di ruang yang gelap. Selanjutnya absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Pengukuran absorbansi kosong juga dilakukan. Hasil penentuan antioksidan dibandingkan dengan asam askorbat sebagai kontrol positif. Nilai aktivitas antioksidan dihitung dengan menggunakan persamaan(1) (P. Molyneux,2004) :

$$\text{Antioksidant activity} = \frac{\text{absorbance control} - \text{absorbance sample}}{\text{absorbance control}} \times 100\% \quad (1)$$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

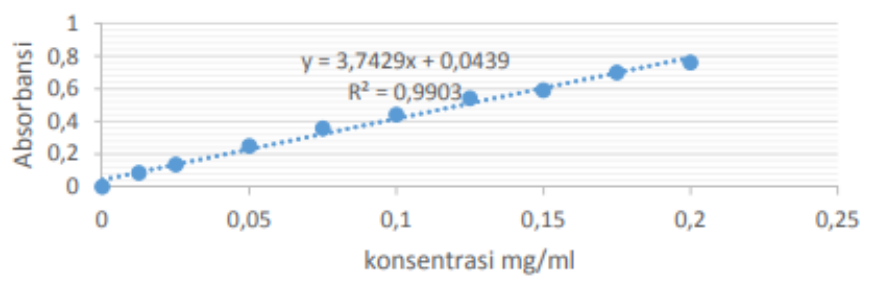
3.1 Sampling Alga

Sampel makro alga yang digunakan pada penelitian ini di peroleh dari pulau pari, kepulauan seribu, indonesia. Setelah dilakukan identifikasi terhadap warna dari cairan ekstrak alga di dapat Jenis alga pada penelitan ini yaitu, Rhodophyta (alga merah), dan Chlorophyta (alga hijau). Pelarut yang digunakan yaitu PBS (Phospat buffer saline) dengan pH 7,54. Alasan menggunakan pelarut buffer ini karena PBS sering digunakan dalam percobaan biologi sel untuk mempertahankan osmolaritas sel karena adanya kandungan ion garam yang mempertahankan pH. Ion Na⁺ dan Cl⁻ yang terkandung dalam PBS memiliki peranan dalam menjaga osmolaritas intraseluler (Fahriza, 2014). Hasil pengujian kadar protein total dengan metode lowry pada sampel Rhodophyta dan

Chlorophyta, yang menggunakan spektrofotometer balok ganda Hitachi U-2000 berukuran UV pada 650 nm dapat dilihat pada tabel 1

Tabel 1. Hasil Uji Protein Metode Lowry

Kode sampel	Abs	Konsentrasi (mg/ml)	Rata - rata	Kadar (mg/10g)	Rata - rata kadar	Standar defiasi
S4	0.159	0,03075	0,02568	3,07516	2,56753	0,44144
	0.129	0,02274		2,27364		
	0.132	0,02354		2,35379		
S24	0.237	0,05159	0,05115	5,15910	5,11457	0,12626
	0.23	0,04972		4,97208		
	0.239	0,05213		5,21254		
S12	0.125	0,02167	0,01686	2,16677	1,68586	0,42997
	0.094	0,01339		1,33853		
	0.102	0,01552		1,55227		
S13	0.195	0,04037	0,03298	4,03698	3,29780	0,79271
	0.136	0,02461		2,46066		
	0.171	0,03396		3,39576		



Gambar 1. Kurva Standar Lowry

Dari hasil uji protein dengan metode lowry di dapat hasil bahwa sebagian besar kandungan protein alga berkisaran antara 1-5%, kode sampel S24 memiliki kadar protein tertinggi yang ditunjukan pada tabel 2 dengan nilai kadar protein $5,115 \pm 0.126$ yang berasal dari Rhodophyta dan nilai kadar protein paling rendah ada pada sampel S12 sebesar 1.686 ± 0.430 yang berasal dari Chlorophyta. Temuan ini menunjukkan bahwa Makro alga Rhodophyta memiliki nilai protein yang lebih tinggi, dibandingkan dengan Chlorophyta.

Tabel 2. Kadar Protein Makro Alga

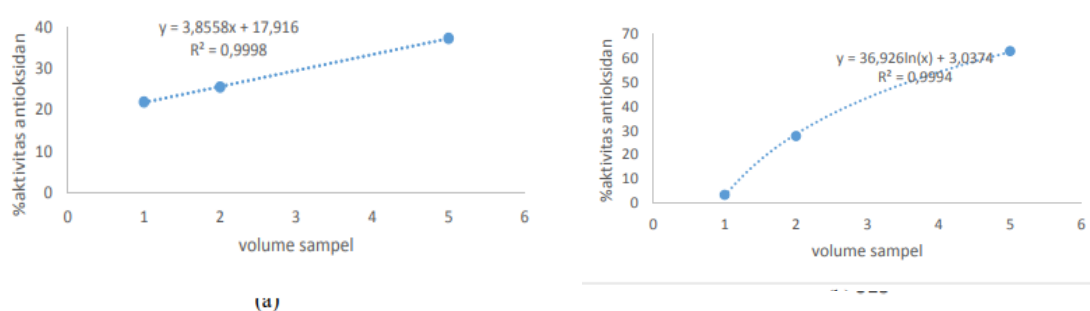
No	Kode sampel	Sampel alga	% Kadar protein
1	S4	Rhodophyta	$2,568 \pm 0,441$
2	S24	Rhodophyta	$5,115 \pm 0.126$
3	S12	Chlorophyta	$1,686 \pm 0.430$
4	S13	Chlorophyta	$3,298 \pm 0.792$

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode *Diphenylpicrylhydrazyl* (DPPH) untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan dimana nilai IC50 berpengaruh terhadap nilai aktivitas antioksidan dari sampel Makro alga. Pengujian dilakukan terhadap ekstrak Alga dan dilakukan secara triplo. Dari hasil pengujian antioksidan, ekstrak alga tertinggi pada volume sampel 3 ml pada sampel S12

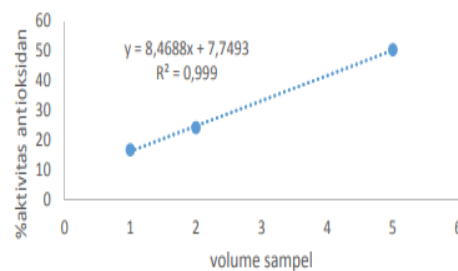
dengan nilai%aktivitas antioksidan sebesar 70.7507 mg/ml. Pengujian aktivitas antioksidan dapat di lihat pada table 3.

Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan dengan Metode DPPH

No	Sampel	Jenis Alga	%Aktivitas Antioksidan		
			1ml	2ml	3ml
1	S4	Rhodophyta	21.8759	25.4886	37.2298
2	S24	Rhodophyta	3.5164	27.7909	62.8294
3	S12	Chlorophyta	38.4661	57.9805	70.7507
4	S13	Chlorophyta	16.6716	24.0820	50.2443



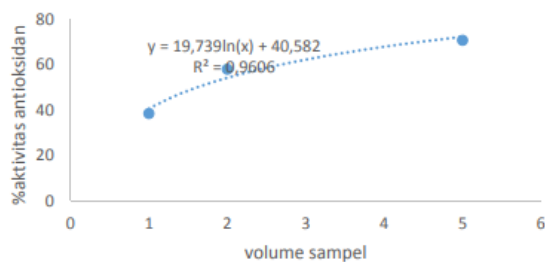
Gambar 3. Grafik % Aktivitas Antioksidan. (a) sampel 4. (b) Sampel 24. (c) sampel 12. (d) Sampel 13



(d)

Berdasarkan gambar, diperoleh persamaan y pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak alga, maka dapat di peroleh nilai IC50 dengan mengganti nilai y dengan angka 50, yang di peroleh dari Quarsetin yang digunakan sebagai kontrol

yang telah menghambat 50 % radikal bebas. Dari Gambar 3 Grafik masing – masing sampel maka diperoleh nilai IC50 dapat dilihat pada tabel 4.



(c)

Tabel 4 Hasil Uji Antioksidan pada Masing- Masing Sampel Makro Alga

No	Sampel	Jenis Alga	%Aktivitas Antioksidan	IC ₅₀ (mg/ml)
1	S4	Rhodophyta	36.5783±0.01245	8,3210
2	S24	Rhodophyta	59.2723±0.06795	3,5673
3	S12	Chlorophyta	71.5946±0.01612	1,6114
4	S13	Chlorophyta	51.1253±0.01683	4,9890

Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan dari hasil Ekstrak Makro alga, terlihat bahwa sampel S12 (Chlorophyta) memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik dengan nilai IC₅₀ sebesar 1,6114 mg/ml, dan paling buruk yaitu sampel S4 (Rhodophyta) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 8,3210 mg/ml, dimana semakin rendah nilai IC₅₀, maka akan semakin baik aktivitas Tabel 5 Analisa anova pada kadar protein total antioksidan dari sampel yang telah di uji. Secara statistik metode ANOVA, terdapat perbedaan yang tidak terlalu signifikan pada kadar rata-rata protein dari masing-masing sampel. Namun terdapat perbedaan yang signifikan pada aktivitas antioksidan dari masing masing sampel. Hal ini dapat dilihat pada tabel 5 dan 6.

Tabel 5 Analisa anova pada kadar protein total antioksidan

sampel	rata-rata kadar protein total	pembanding	beda (Absolut)	LSD=BNt	signifikansi
S4	2,57	S24	2,54	2,74472	TS
	2,57	S12	0,88	2,74472	TS
	2,57	S13	0,73	2,74472	TS
S24	5,11	S4	2,54	2,74472	TS
	5,11	S12	3,42	2,74472	S
	5,11	S13	1,81	2,74472	TS
S12	1,69	S4	0,88	2,74472	TS
	1,69	S24	3,42	2,74472	S
	1,69	S13	1,61	2,74472	TS
S13	3,3	S4	0,73	2,74472	TS
	3,3	S24	1,81	2,74472	TS
	3,3	S12	1,61	2,74472	TS

Tabel 6 Analisa anova pada %aktivitas antioksidan

sampel	rata-rata % aktivitas antioksidan	pembanding	beda (Absolut)	LSD=BNt	signifikansi
S4	36,57832	S24	22,69396	0,489382	S
	36,57832	S12	35,01629	0,489382	S
	36,57832	S13	14,54694	0,489382	S
S24	59,27228	S4	22,69396	0,489382	S
	59,27228	S12	12,32233	0,489382	S
	59,27228	S13	8,14702	0,489382	S

S12	71,59461	S4	35,01629	0,489382	S
	71,59461	S24	12,32233	0,489382	S
	71,59461	S13	20,46935	0,489382	S
S13	51,12526	S4	14,54694	0,489382	S
	51,12526	S24	8,14702	0,489382	S
	51,12526	S12	20,46935	0,489382	S

Ket : LSD = least significance different; BNT = beda nyata terkecil; TS = tidak signifikan; S = signifikan

4. KESIMPULAN

Hasil ekstraksi protein pada sampel alga dari perairan pulau pari menggunakan metode maserasi dengan pelarut PBS menghasilkan yield yang cukup besar Kadar protein pada alga merah (S4), alga merah (S24), alga hijau (12), dan alga hijau (S13) berturut – turut adalah $2,568 \pm 0,441$; $5,115 \pm 0,126$; $1,686 \pm 0,430$; dan $3,298 \pm 0,792\%$. Sedangkan % aktivitas antioksidan dari alga merah (S4), alga merah (S24), alga hijau (12), dan alga hijau (S13) berturut – turut adalah $36,5783 \pm 0,01245\%$; $59,2723 \pm 0,06795\%$; $71,5946 \pm 0,01612\%$; dan $51,1253 \pm 0,01683\%$ Sampel S12 (Chlorophyta) memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik dengan nilai IC50 sebesar 1,6114 mg/ml, dan paling buruk yaitu sampel S4 (Rhodophyta) memiliki nilai IC50 sebesar 8,3210 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] H. S. Yoon, K. M. Müller, R. G. Sheath, F. D. Ott, and D. Bhattacharya, “Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta),” *J. Phycol.*, vol. 42, no. 2, pp. 482–492, 2006.
- [2] K. Chojnacka, “Biologically Active Compounds in Seaweed Extracts - the Prospects for the Application,” *Open Conf. Proc. J.*, vol. 3, no. 1, pp. 20–28, 2012.
- [3] A. N. Howard and F. Wild, “The reactions of diazonium compounds with amino acids and proteins,” *Biochem. J.*, vol. 65, no. 4, pp. 651–659, 2015.
- [4] E. W. Becker, “Micro-algae as a source of protein,” *Biotechnol. Adv.*, vol. 25, no. 2, pp. 207–210, 2007.
- [5] C. Coyle *et al.*, “Tetraethyl orthosilicate and acrylic acid forming robust carboxylic functionalities on plastic surfaces for biodiagnostics,” *Plasma Process. Polym.*, vol. 9, no. 1, pp. 28–36, 2012.
- [6] K. S. Echtay, M. P. Murphy, R. A. J. Smith, D. A. Talbot, and M. D. Brand, “Superoxide activates mitochondrial uncoupling protein 2 from the matrix side: Studies using targeted antioxidants,” *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 49, pp. 47129–47135, 2002.
- [7] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggenete, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, “Trolox ASSAY,” *Int. Antioxid. Res. Centre, Guy’s, King’s St Thomas’ Sch. Biomed. Sci. Kings Coll. Campus, London SE1 9RT, UK*, vol. 26, no. 98, p. Free

Radical Biology & Medicine, Vol. 26, Nos. 9/1, 1999.

- [8] N. A. Porter, S. E. Caldwell, and K. A. Mills, "Mechanisms of free radical oxidation of unsaturated lipids," *Lipids*, vol. 30, no. 4, pp. 277–290, 1995.
- [9] "No Title ヒドロキシアパタイト超微細結晶の水熱合成."
- [10] M. Terashima, I. Nakatani, A. Harima, S. Nakamura, and M. Shiiba, "New method to evaluate water-soluble antioxidant activity based on protein structural change," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 55, no. 1, pp. 165–169, 2007.
- [11] A. Saiga, S. Tanabe, and T. Nishimura, "Antioxidant activity of peptides obtained from porcine myofibrillar proteins by protease treatment," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 51, no. 12, pp. 3661–3667, 2003.