

Karakterisasi Protein Alga Coklat dan Merah dari Perairan Pulau Pari Sebagai Zat Antioksidan

Elvi Kustiyah¹, Bungaran Saing², Avira Afriyanti³, Ibnu Susanto Joyosemito⁴

^{1,2,3} Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Bhayangkara Jakarta Raya

⁴ Program Studi Teknik Lingkungan, Fakultas Teknik, Universitas Bhayangkara Jakarta Raya

Email: elvikustiyah@gmailcom

ABSTRAK

Kandungan dalam alga meliputi polisakarida, mineral, protein, lemak, vitamin, polifenol dan senyawa bioaktif yang bisa memberikan manfaat terhadap sumber makanan, vitamin maupun farmasi. Investigasi karakter Alga Coklat dan Alga Merah yang diperoleh dari perairan pulau pari kepulauan seribu wilayah Indonesia dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan zat yang mampu menjadi alternatif sumber anti oksidan . Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi maserasi dengan pelarut Phosfat Buffer Saline (PBS) sedangkan Uji kadar protein alga menggunakan metode Lowry dan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH). Hasil penelitian menunjukkan kadar protein yang tertinggi diperoleh pada sampel alga merah, sedangkan nilai kadar protein paling rendah terdapat pada alga cokelat . Nilai aktivitas antioksidan yang paling baik yaitu pada sampel yang berasal dari alga merah dengan nilai IC_{50} sebesar 3,5421 mg/ml.

Kata Kunci: Alga, protein, antioksidan.

ABSTRACT

An alga contains polysaccharides, minerals, proteins, fats, vitamins, polyphenols and bioactive compounds that can provide benefits for food, vitamin and pharmaceutical sources. Characteristic investigations of Brown Algae and Red Algae from the Pari Island waters, Thousand Islands, Indonesia, were carried out to obtain substances that could be an alternative source of antioxidants. The maceration extraction method using Phosphate Buffered Saline (PBS) as solvent was used in this study. Protein content in algae was investigated by Lowry method and the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method was used to investigate the antioxidant activity of algae. The results showed that the highest protein content was found in Red Algae and the lowest is in Brown Algae. The best value of antioxidant activity was found in Red Algae with the IC_{50} value of 3.5421 mg/ml.

Keywords: Algae, protein, antioxidants.

1. PENDAHULUAN

Antioksidan adalah salah satu parameter penting untuk memantau kesehatan tubuh manusia, yaitu dengan cara mengendalikan reaktivitas yang tinggi dari radikal bebas. Akibat buruk dari radikal bebas ini adalah mampu mempengaruhi membran dan inti sel sehingga mampu merusak dirinya sendiri.(Ito et al., 2018) Adapun sel yang sering diserang radikal bebas adalah sel lemak, sel protein dan sel asam nukleat. Salah satu mekanisme pertahanan tubuh terhadap serangan radikal bebas adalah zat antioksidan(Amarowicz, Pegg, Rahimi-Moghaddam, Barl, & Weil, 2004)

Zat antioksidan banyak ditemukan di makanan yang mengandung vitamin A, vitamin C, vitamin E, selenium, beta karoten, lutein dan lignan. Antioksidan biasanya terkandung pada buah-buahan, sayur-sayuran, bawang-bawangan juga bisa didapatkan dari biota laut. Penelitian telah banyak dilakukan untuk menginvestigasi aktivitas anti oksidan di timun laut, bintang laut, selada laut bahkan juga rumput laut atau kelompok *algae*.(Dang, Bowyer, Van Altena, & Scarlett, 2017)

Keanekaragaman jenis dan kelimpahan alga di Indonesia merupakan terbesar dibandingkan dengan negara lain. Namun, pemanfaatan alga di bidang industri dan kesehatan masih belum optimal. Ironisnya, di Indonesia, makroalga (rumput laut) hanya dibiarkan sebagai sampah lautan, mengapung, hanyut terbawa arus, ataupun terdampar di pinggir pantai. Padahal alga berpotensi ekonomis sebagai bahan baku dalam industri dan kesehatan dibalik peran alga yang bertugas menjaga kestabilan ekosistem laut dan tempat hidup serta tempat berlindung bagi biota laut lain(Dang et al., 2017)

Makroalga merupakan tumbuhan laut yang secara morfologis tidak dapat dibedakan antara akar, batang dan daun secara jelas. Seluruh tubuh rumput laut hanya menyerupai batang yang disebut *thallus*. Klasifikasi rumput laut berdasarkan kandungan pigmen terdiri dari 4 kelas, yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut merah (*Rhodophyta*), rumput laut coklat (*Phaeophyta*) dan rumput laut pirang (*Chrysophyta*) . (Wang, Xiao, Wang, Zhou, & Tang, 2007). Dalam rumput laut mengandung polisakarida, mineral, protein, lipid dan lemak, vitamin, polifenol dan senyawa bioaktif. Alga mempunyai beragam potensi bioaktivitas antara lain sebagai obat dan suplemen, antioksidan, antiobesitas (pelangsing), antidiabetes, antibakteri, antiinflamasi, dan antikanker (Suparmi & Sahri, 2009).

Protein merupakan makromolekul dalam sel yang mempunyai berat molekul besar yang sangat bervariasi.(Liu, Jin, Lin, Jones, & Chen, 2015) Struktur protein terdiri dari polipeptida yang mempunyai rantai panjang, dan tersusun atas banyak asam amino. Protein memiliki peranan penting dalam semua proses biologi. Peran dan aktivitas protein antara lain: katalis enzimatis, transport dan penyimpanan, koordinasi gerak, penunjang mekanis dan protein imun. Pada rumput laut jenis coklat, protein yang terkandung di dalamnya berkisar 5-15% dari berat kering, sedangkan pada rumput laut hijau dan merah berkisar 10-30% dari berat kering (Suparmi & Sahri, 2009).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai kuantitas kadar protein yang terdapat dalam alga coklat dan Alga Merah serta potensinya sebagai zat antioksidan yang diambil dari pantai di Kepulauan Seribu. Penelitian ini dilakukan serangkaian tahapan pengerjaan, dimulai dari pengambilan sampel, ekstraksi protein, uji kadar protein alga , dan uji aktivitas antioksidan.

2. METODE PENELITIAN

2.1 Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini antara lain alga coklat dan Alga Merah yang berasal dari Perairan Pantai Pulau Pari Kepulauan Seribu. Sedangkan bahan-bahan pendukung yang digunakan antara lain: *Phosphat Buffer Saline* (PBS) (0,02 M ;pH 7,0 ;0,85% NaCl), *Bovine Serum Albumin(BSA)*, akuades, Lowry A (follin clocalteus (Larutan asam phosphotungstat-phosphomolybdat) dengan akuades 1:1), Lowry B (Na₂CO₃ 2%; NaOH 0,1 N; CuSO₄.5H₂O 1%, Natrium kalium tartrat 2%), HCl 1 M, *diphenylpicrylhydrazyl(DPPH)*, methanol, dan quarsetin

2.2 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: plastic clip, spektrofotometer UV-Vis Hitachi U-2000, neraca analitik, ice dryer, Sentrifugen Universal 320R, magnetik stirrer, refrigerator, pisau, blender, cawan kaca, stopwatch, kantong dialisis, saringan/kain kasa, gelas kimia, labu ukur, tabung reaksi, erlenmeyer dan pipet tetes

2.3 Metode penelitian

2.3.1 Sampling Alga

Alga yang sudah didaptakan dari perairan kepulauan seribu kemudian dicuci dengan air tawar untuk menghilangkan kotoran dan organisme yang menempel, kemudian alga dimasukkan kedalam kantong sampel dan diberi label. Kantong sampel dimasukkan ke dalam *cool box* yang berisi es untuk menjaga kesegarannya dan terhindar dari matahari secara langsung.

2.3.2 Ekstraksi Protein

Metode yang digunakan untuk mengekstraksi alga adalah metode maserasi dengan menggunakan pelarut *Phosfat Buffer Saline* (PBS). Sampel dari dalam *cold storage* dikeringkan dan dipotong kecil-kecil dan dihaluskan, diambil sebanyak 10 gram dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Sampel direndam dalam larutan *Phosphat buffer saline* (PBS) 60 ml dan diaduk. Kemudian sampel dimasukkan ke dalam botol dan disimpan ke dalam refrigerator selama 24 jam pada temperatur 4°C. Campuran sampel kemudian disaring dengan menggunakan kain kasa untuk mendapatkan filtrat. Filtrat yang diperoleh disentrifus dengan kecepatan 1000 rpm selama 15 menit pada temperatur 4 °C. Supernatan hasil sentrifus ditambahkan larutan PBS sampai volume menjadi 100 ml kemudian disimpan kembali ke dalam *refrigerator*.

2.3.3 Uji Kadar Protein Total

Kadar protein pada tiap fraksi ditentukan oleh metode Lowry menggunakan larutan standar *Bovine Serum Albumin* (BSA). Pertama, masukkan ke dalam tabung reaksi : 0(blanko) ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 dan 1 ml larutan protein standar (BSA), 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. Setelah itu, tambahkan 0,5 ml larutan Lowry A, kocok hingga merata dengan cepat sesudah penambahan, biarkan selama ± 30 menit sampai warna biru terbentuk. Lalu ukur absorbansinya pada panjang gelombang 650 nm. Kemudian buat kurva protein standart. Hitung kadar tiap sampel dengan menggunakan persamaan yang didapat dari kurva protein standart.

2.3.4 Uji Aktivitas Antioksidan

Uji kadar antioksidan menggunakan metode (DPPH). Sampel protein sebanyak 5ml dimasukan ke dalam cawan kaca dan dikeringkan dalam drying oven pada suhu 50°C selama 24 jam. Sampel kering yang didapat ditimbang kemudian dilarutkan dengan 1 ml PBS . Larutan sampel tadi dimasukkan ke tabung reaksi dengan pengulangan 2 kali (duplo) sebanyak 4 ml (1 ml sampel + 3 ml metanol). Blanko yang digunakan yaitu quarsetin. Kemudian tambahkan 1 ml larutan DPPH 1 mM sehingga konsentrasi larutan DPPH menjadi 0,2 mM. Sampel kemudian diinkubasi pada suhu ruang dan tempat yang gelap selama 30 menit. Setelah 30 menit, sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum 517 nm. Pengukuran absorbansi kosong juga dilakukan.

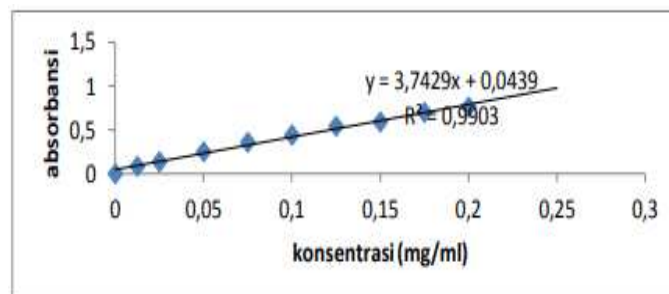
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Ekstraksi protein

Ekstraksi yang dilakukan menggunakan metode maserasi, yaitu metode ekstraksi dengan cara merendam sampel dalam pelarut dengan atau tanpa pengadukan. Prinsip ekstraksi metode ini adalah pelarut akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung komponen bioaktif. Proses perpindahan komponen bioaktif dari dalam bahan ke pelarut terjadi secara difusi. Proses difusi merupakan perubahan secara spontan dari fase yang memiliki konsentrasi lebih tinggi menuju konsentrasi lebih rendah. Proses ini akan terus berlangsung selama komponen bahan padat yang dipisahkan menyebar diantara kedua fase. Proses difusi akan berakhir jika kedua fase berada dalam kesetimbangan, yaitu apabila seluruh zat sudah terlarut dan konsentrasi larutan yang terbentuk menjadi seragam. Pelarut yang digunakan adalah PBS pH 7,54. PBS sering digunakan dalam percobaan biologi untuk mempertahankan osmolaritas sel karena adanya ion garam (Na^+ dan Cl^-) yang mempertahankan pH.

3.2 Uji Kadar Protein Total

Uji kadar protein total pada sampel alga coklat dan alga merah ditentukan menggunakan metode Lowry. Hasil pengujiannya menggunakan spektrofotometer balok ganda Hitachi U-2000 berukuran UV pada 650 nm dapat dilihat pada gambar 1 untuk kurva standard:



Gambar 1. untuk kurva standard pengukuran absorpsi alga merah dan alga coklat

Selanjutnya kurva standar ini digunakan untuk mendefinisikan kadar protein dalam sample

Tabel 1. Kadar Protein Makroalga

Kode sampel	Sampel alga	% Kadar protein mg/10g
S4	Rhodophyta	2,568±0,441
S24	Rhodophyta	5,115±0,126
S5	Phaeophyta	4,856±3,725
S9	Phaeophyta	2,078±0,505

Tabel 1 menunjukkan bahwa kadar protein dalam alga sekitar 2-5%. Kadar protein yang paling tinggi yaitu pada sampel S24 dengan kandungan sebesar 5,115±0,126% yang berasal dari alga merah. Sedangkan nilai kadar protein paling rendah terdapat pada sampel S9 sebesar 2,078±0,505% yang berasal dari alga coklat. Temuan ini menunjukkan bahwa makro alga *Rhodophyta* memiliki nilai protein yang lebih tinggi, dibandingkan dengan *Phaeophyta*.

3.3 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengukuran aktivitas antioksidan yaitu dengan metode DPPH menggunakan spektrofotometri. Metode pengujian DPPH merupakan metode yang telah lama digunakan untuk penetapan aktivitas antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan dinyatakan dalam % aktivitas antioksidan yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji antioksidan activity dengan metode DPPH

Sampel	Jenis Alga	% Aktivitas Antioksidan		
		1 ml	2 ml	5 ml
S4	Rhodophyta	21,8759	25,4886	37,2297
S24	Rhodophyta	3,5164	27,7909	62,8294
S5	Phaeophyta	20,8765	30,2932	35,4975
S9	Phaeophyta	1,9840	20,8765	58,3136

Dari data pada Tabel 2 di atas, diperoleh persamaan regresi yang digunakan untuk menghitung nilai IC_{50} . IC_{50} merupakan parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% efek aktivitas antioksidan. Persamaan regresi diperoleh dari hubungan antara konsentrasi sampel dan persentase penghambat aktivitas radikal bebas. Nilai IC_{50} diperoleh dengan memasukkan $Y=50$ sehingga nilai konsentrasi sampel (x) dapat dihitung. Quarsetin digunakan sebagai kontrol yang telah menghambat 50 % radikal bebas. Tabel 3 berikut merupakan data nilai hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing makroalga.

Tabel 3. Hasil Uji Antioksidan pada Masing- Masing Sampel Makro Alga

Sampel	Jenis Alga	%Aktivitas Antioksidan	IC_{50} (mg/ml)
S4	Rhodophyta	36,5783±0,0124	8,324254
S24	Rhodophyta	59,2723±0,0679	3,542056
S5	Phaeophyta	35,09402±0,0048	23,065401
S9	Phaeophyta	60,90465±0,0494	4,34048

Dari Tabel 3 diatas, terlihat bahwa sampel S24 (*Rhodophyta*) memiliki aktivitas antioksidan yang paling baik dengan nilai IC_{50} sebesar 3,5421 mg/ml, dan paling buruk yaitu sampel S5 (*Phaeophyta*) memiliki nilai IC_{50} sebesar 23,0654 mg/ml. Semakin rendah nilai IC_{50} , maka akan semakin baik aktivitas antioksidan dari sampel yang telah di uji (Ito et al., 2018)

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 4 dan 5

Tabel 4. Analisa anova pada kadar protein total

Sampel	Rata-rata kadar protein	Beda absolut	LSD =BNt	Signifikan
S4	2,5675	2,547	4,028	TS
	2,5675	2,2888	4,028	TS
	2,5675	0,4898	4,028	TS
S24	5,1146	2,547	4,028	TS
	5,1146	0,2583	4,028	TS
	5,1146	3,0369	4,028	TS
S5	4,8563	2,2888	4,028	TS
	4,8563	0,2583	4,028	TS
	4,8563	2,7786	4,028	TS
S9	2,0777	0,4898	4,028	TS
	2,0777	3,0369	4,028	TS
	2,0777	2,7786	4,028	TS

Tabel 5. Analisa anova pada %aktivitas antioksidan

Sampel	Rata-rata % aktivitas antioksidan	Beda absolut	LSD =BNt	Sign
S4	36,578323	22,694	0,471158	S
	36,578323	1,4843	0,471158	S
	36,57832	24,326	0,471158	S
S24	59,272283	22,694	0,471158	S
	59,272283	24,178	0,471158	S
	59,272283	1,6323	0,471158	S
S5	35,094018	1,4843	0,471158	S
	35,094018	24,178	0,471158	S
	35,094018	25,810	0,471158	S
S9	60,904649	24,326	0,471158	S
	60,904649	1,6323	0,471158	S
	60,904649	25,810	0,471158	S

Ket : Sign= Significant LSD = *least significance different*; BNt = beda nyata terkecil;

TS = tidak signifikan; S = signifikan

4. KESIMPULAN

Kesimpulan pada penelitian ini, dibandingkan alga cokelat (*Phaeophyta*) kadar protein alga merah lebih tinggi yaitu sebesar $5,115 \pm 0.126\%$ sedangkan kadar protein yang berasal dari alga cokelat hanya sebesar $2,078 \pm 0.505\%$. Nilai aktivitas antioksidan yang lebih baik adalah alga merah *a*) yaitu dengan nilai IC_{50} sebesar 3,5421 mg/ml, sedangkan alga cokelat memiliki aktivitas antioksidan yang kurang baik dengan nilai IC_{50} sebesar 23,0654 mg/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B., & Weil, J. A. (2004). Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. *Food Chemistry*, 84(4), 551–562. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00278-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00278-4)
- [2] Dang, T. T., Bowyer, M. C., Van Altena, I. A., & Scarlett, C. J. (2017). Comparison of chemical profile and antioxidant properties of the brown algae. *International Journal of Food Science & Technology*, 174–181. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13571>
- [3] Ito, M., Koba, K., Hikihara, R., Ishimaru, M., Shibata, T., Hatate, H., & Tanaka, R. (2018). Analysis of functional components and radical scavenging activity of 21 algae species collected from the Japanese coast. *Food Chemistry*, 255(January), 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.070>
- [4] Liu, J., Jin, Y., Lin, S., Jones, G. S., & Chen, F. (2015). Purification and identification of novel antioxidant peptides from egg white protein and their antioxidant activities. *Food Chemistry*, 175, 258–266. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.11.142>
- [5] Suparmi, & Sahri, A. (2009). Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut Dari Aspek Industri Dan Kesehatan. *Sultan Agung, XLIV*(118), 95–116.
- [6] Wang, R., Xiao, H., Wang, Y., Zhou, W., & Tang, X. (2007). Effects of three macroalgae, *Ulva linza* (Chlorophyta), *Corallina pilulifera* (Rhodophyta) and *Sargassum thunbergii* (Phaeophyta) on the growth of the red tide microalga *Prorocentrum donghaiense* under laboratory conditions. *Journal of Sea Research*, 58(3), 189–197. <https://doi.org/10.1016/j.seares.2007.03.002>