

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FIKOBILIPROTEIN DARI
Oscillatoria sp. MENGGUNAKAN METODE VOLTAMMETRI SIKLIK**

(Skripsi)

Oleh

INTAN MAILANI



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PHYCOBILIPROTEIN FROM *Oscillatoria* sp. USING CYCLIC VOLTAMMETRY METHOD

By

INTAN MAILANI

Phycobiliprotein is a pigment protein of algae and shows potential antioxidation activity. In this study, phycobiliprotein isolated from the cultivation of *Oscillatoria* sp. and the antioxidant activity was measured using cyclic voltammetry method. Antioxidant activity of phycobiliprotein was measured in the form of crude and pure pigment (phycocyanin) with ascorbic acid as a positive control. Antioxidant activity of phycobiliprotein analyzed with UV-Vis spectrophotometry and showed maximum absorption at 620 nm. The crude extract concentration is 3.90×10^{-6} M and pure pigment (phycocyanin) concentration is 3.02×10^{-6} M. Voltammogram phycobiliprotein oxidation reactions are at potential range 1.2-1.3 V with a current phycocyanin pigment oxidation peak higher than the peak current of oxidation crude extract. Antioxidant coefficient activity were evaluated by observed reduction potential of radical $O_2^{\cdot-}$ at 0.85 to 1.12 V. Antioxidant coefficient activity obtained from the crude extract is 0.043 and for phycocyanin pigment is 0.047 while ascorbic acid as a positive control is 0.018. Therefore, the antioxidant capability of phycobiliprotein crude extract and pure pigment phycocyanin both are higher than ascorbic acid.

Keywords: Phycobiliprotein, *Oscillatoria* sp., Antioxidant, phycocyanin, cyclic voltammetry.

ABSTRAK

PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FIKOBILIPROTEIN DARI *Oscillatoria* sp. MENGGUNAKAN METODE VOLTAMMETRI SIKLIK

Oleh

INTAN MAILANI

Fikobiliprotein merupakan pigmen protein yang berasal dari alga dan memiliki potensi sebagai antioksidan. Dalam penelitian ini, fikobiliprotein diisolasi dari hasil kultivasi *Oscillatoria* sp. dan diukur aktivitas antioksidannya menggunakan metode voltammetry siklik. Aktivitas antioksidan fikobiliprotein diukur dalam bentuk ekstrak kasar dan pigmen murni (fikosianin) dengan asam askorbat sebagai kontrol positif. Identifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis menunjukkan serapan fikobiliprotein pada λ_{maks} 620 nm dan diperoleh konsentrasi dari ekstrak kasar fikobiliprotein sebesar 3.90×10^{-6} M dan konsentrasi pigmen murni (fikosianin) sebesar 3.02×10^{-6} M. Data hasil voltammogram pengukuran aktivitas antioksidan fikobiliprotein dengan metode voltametri siklik menunjukkan terjadinya reaksi oksidasi fikobiliprotein pada daerah potensial antara 1.2 V sampai dengan 1.3 V dengan arus puncak oksidasi pigmen fikosianin yang lebih tinggi dibandingkan arus puncak oksidasi ekstrak kasar. Dari sisi reduksi oksigen kemampuan fikobiliprotein meredam radikal oksigen terjadi pada daerah potensial 0.85-1.12 V. Koefisien aktivitas antioksidan yang diperoleh dari ekstrak kasar sebesar 0.043 dan pigmen fikosianin sebesar 0.047 sedangkan untuk kontrol positif asam askorbat sebesar 0.018. Dari hasil voltammogram dan koefisien aktivitas yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa fikobiliprotein dalam bentuk ekstrak kasar dan pigmen murni memiliki kemampuan sebagai antioksidan lebih tinggi dibandingkan asam askorbat.

Kata kunci : Fikobiliprotein, *Oscillatoria* sp., antioksidan, fikosianin, voltametri siklik.

**PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FIKOBILIPROTEIN DARI
Oscillatoria sp. MENGGUNAKAN METODE VOLTAMMETRI SIKLIK**

Oleh

Intan Mailani

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

**Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam**



**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2016**

Judul Skripsi : **PENENTUAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
FIKOBILIPROTEIN DARI *Oscillatoria* sp.
MENGUNAKAN METODE VOLTAMMETRI
SIKLIK**

Nama Mahasiswa : **Intan Mailani**

Nomor Pokok Mahasiswa : 1217011031

Jurusan : Kimia

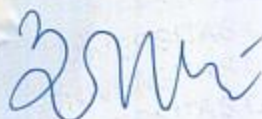
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI

1. Komisi Pembimbing



Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.
NIP 19580922 198811 1 001



Dian Septiani P., M.Si.
NIP 19800908 200912 2 003

2. Ketua Jurusan Kimia



Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.
NIP 19740705 200003 1 001

MENGESAHKAN

1. Tim Penguji

Ketua

: **Andi Setiawan, M.Sc., Ph.D.**


.....

Penguji
Pembimbing II

: **Dian Septiani P., M.Si.**


.....

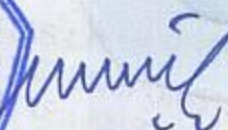
Penguji
Bukan Pembimbing

: **Dr. Eng. Suripto Dwi Yuwono, M.T.**


.....

2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam




Prof. Warsito, S.Si., DEA., Ph.D.

NIP 19710212 199512 1 001

Tanggal Lulus Ujian Skripsi : **18 Agustus 2016**

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Bukit Kemuning, yang berada dalam wilayah kekabupatenan Lampung Utara, Provinsi Lampung pada 07 Mei 1995 sebagai anak ke lima dari enam bersaudara pasangan Bapak Alm. Nasarudin dan Ibu Jasnidarwati. Penulis menyelesaikan pendidikan sekolah dasar di SDN 02

Muara Aman Bukit Kemuning pada tahun 2006. Kemudian melanjutkan pendidikan ke SMP N 04 Bukit Kemuning dan lulus pada tahun 2009. Selanjutnya, Penulis diterima di SMA Negeri 1 Bukit Kemuning dan lulus pada tahun 2012. Pengalaman organisasi tingkat SMA adalah sebagai Anggota Rohani Islam Siswa (ROHIS) pada tahun 2010-2011.

Pada tahun 2012 Penulis diterima sebagai mahasiswi Jurusan Kimia FMIPA Universitas Lampung melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN) Tertulis. Selama kuliah Penulis pernah mendapatkan beasiswa PPA pada tahun 2013/2014 dan 2015/2016, juga beasiswa BBP-PPA pada tahun 2014/2015. Penulis pernah menjadi asisten praktikum Sains Dasar Jurusan Biologi angkatan 2014 dan Jurusan Matematika angkatan 2015, Selain itu juga sebagai asisten praktikum Kimia Dasar Jurusan Teknik Hasil

Pertanian angkatan 2015. Penulis juga pernah menjadi asisten Praktikum Kimia Organik II pada tahun 2016.

Selama menjadi mahasiswa Penulis aktif dalam organisasi sebagai Anggota Bidang Sains dan Penalaran Ilmu Kimia (SPIK) tahun 2013-2015, Anggota Badan Eksekutif Mahasiswa Fakultas (BEM F) Bidang Advokasi dan Kesejahteraan Mahasiswa (ADKESMA) tahun 2013-2014, dan Anggota Mahasiswa ROIS (AMAR) Muda tahun 2012-2013. Penulis pernah mengikuti Pelatihan Dasar Design Grafis yang diselenggarakan oleh Himpunan Mahasiswa Kimia (HIMAKI) tahun 2013 dan Pelatihan Keterampilan Dasar Laboratorium yang diselenggarakan oleh UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung tahun 2015.

MOTTO

Ilmu itu lebih baik dari kekayaan, karena kekayaan itu harus dijaga,
sedangkan ilmu menjaga kamu
(Ali bin Abi Thalib)

Dua tentara yang tidak akan bisa dikalahkan ialah hati
yang ikhlas dan do'a yang tulus
(Ibn Taymiyyah)

When there is no way, Allah will make a way

*Barang siapa yang menolong agama Allah, Niscaya Dia
akan menolongmu dan meneguhkan kedudukanmu
(QS. Muhammad : 7)*

*Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan
(QS. Al-Insyirah : 5-6)*



بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

Persembahan

*Dengan mengucapkan
Alhamdulillah rabbil'alamin kepada Allah SWT*

*Ku persembahkan karya kecilku ini
Untuk*

*Alm. Ayahku., Ibuku, Kakak-kakakku, Adikku dan
Keponakan-keponakanku yang tak pernah bosan
memberikan kasih sayang, do'a, dan dukungan padaku.*

*Almamater tercinta
Universitas Lampung*

SANWACANA

Segala puji dan syukur kepada ALLAH SWT yang telah memberikan rahmat-Nya sehingga Penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Penentuan Aktivitas Antioksidan Fikobiliprotein dari *Oscillatoria* sp. Menggunakan Metode Voltammetri Siklik**”. Shalawat serta salam Penulis haturkan kepada Nabi Agung Muhammad SAW yang kita nanti-nantikan syafaatnya di *yaumul qiyamah* kelak. *Aamiin*.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibuku Jasnidarwati atas seluruh cinta, kasih sayang, kesabaran, keikhlasan, do'a, perjuangan, dan dedikasi dalam mendidikku, semoga Allah membalas dengan *jannah*-Nya, *aamiin Allahumma amiin*;
2. Alm. Ayahku Nasarudin, yang telah menjadi inspirasi dan salah satu motivasiku untuk tidak menyerah dalam menyelesaikan skripsi ini;
3. Kakak-kakakku, Dewi Sartika, Andi Ujang Sastrawan, Ria Apriyani Kartini, Mardiani Novita Sari, dan Adikku Septian Renaldi atas kebersamaan dan kasih sayangnya, serta motivasi dan dukungan yang selalu diberikan kepada penulis. Kakak-kakak iparku, kak Musfir, Bang Emen, dan Uni Eka yang selalu memberikan dukungan. Tidak lupa untuk keponakan-keponakanku

tersayang, Hafizh, Ashfa, Zahidah, Rana, Naufal dan Shahih yang selalu menjadi penyemangat bagi penulis;

4. Bapak Andi Setiawan M. Sc., Ph. D. selaku Pembimbing I penelitian yang dengan sabar telah membimbing Penulis hingga skripsi ini dapat terselesaikan;
5. Ibu Dian Septiani P., M.Si. selaku Pembimbing II penelitian yang telah membimbing Penulis dengan penuh kesabaran sehingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik;
6. Dr., Eng., Suropto Dwi Yuwono, M.T. selaku Pembahas dalam penelitian ini atas bimbingan dan nasihat beliau sehingga skripsi ini dapat terselesaikan;
7. Prof., Dr., Sutopo Hadi, S.Si., M.Sc. selaku pembimbing akademik yang dengan bijaksana bersedia membimbing penulis selama masa perkuliahan hingga masa penyelesaian skripsi ini;
8. Prof. Suharso, Ph. D. selaku dekan FMIPA Unila periode 2011-2016 dan Prof. Warsito, S. Si., D.E.A., Ph. D. selaku dekan FMIPA Unila periode 2016-2021 atas izin penelitian yang diberikan;
9. Dr. Eng. Suropto Dwi Yuwono, M. T. selaku Ketua Jurusan Kimia FMIPA Unila yang telah memberikan izin penelitian;
10. Seluruh dosen Kimia FMIPA Unila yang tak dapat disebutkan satu persatu, terima kasih banyak atas kasih sayang dan bimbingannya dalam mengajar sehingga Penulis dapat menyelesaikan waktu studi tepat waktu;
11. Pak Ghani, Mb Nora, dan seluruh staf jurusan Kimia dan Fakultas Mipa yang telah banyak membantu penulis dalam menyelesaikan berkas-berkas yang diperlukan selama masa perkuliahan hingga skripsi.

12. Sahabatku Risi Cicilia yang selalu memberikan semangat, dan setia mendengarkan curahan hati dan keluh kesah penulis selama masa perkuliahan hingga penyelesaian skripsi. See you on top;
13. *Partner* penelitianku Dewi Aniatul Fatimah yang sudah banyak melewati suka duka bersama selama penelitian dan selalu bersedia membantu dan memberi saran dalam segala hal kepada penulis. Semangat untuk masa depan..;
14. Teman-teman SMA ku Cicil, Adis, Vera, Ratih, Tessa, Uci, Guntur, Mail, dan semua anak-anak COS 3X dari yang kece, tengil, pendiem, urakan, bahan *bullying* kelas, tukang rusuh dll, terimakasih untuk kebersamaan, kehebohan dan kenangan manis yang tidak akan pernah terlupakan;
15. Untuk Ulfatun Nurun alias Upeh yang selalu bersedia memberikan bantuan dan semangat, selalu bersedia mendengarkan curhatan, selalu bersedia *dibully*, dikongekin, dan dijahilin. Sabar ya, jangan kapok temenan sama aku;
16. Rekan-rekan laboratorium UPT LT-SIT, Tri Marital, *partner* seperjuangan dalam melewati suka duka selama bimbingan, Yunsi'u Nasy'ah dan Riandra Pratama yang gak kalah gupeknnya ngurusin penelitian, Mb Yunia, Kak Miftah, Kak Wagiran, dan Kak Purna yang selalu bersedia memberi bantuan dan direpotkan. Terimakasih untuk canda tawa yang sudah kalian torehkan selama di laboratorium;
17. Tim *Halaqah* Mb Reni, Imas, Afrin, Aisyah, dan Intan Pertiwi, terimakasih untuk ilmu, nasihat, kesabaran, kebersamaan, keceriaan dan semangat yang sudah kalian berikan agar tetap istiqomah memperjuangkan Syari'at Allah.
Uhibbukum Fillaah Ukhtinna;

18. Untuk *My housemates* Upeh, Devi, Endah, Maya, Laras, Mb Yuni, Mb Nika, dan Mb Sunarsih, dan juga untuk para alumni B4NO5 Mb Reni, Mb Yumna, Mb Dhila, Mb Adhit dan Hoobae Afrin terimakasih untuk kesabaran dalam menghadapi tingkah anehku di kosan dan terimakasih untuk semua bantuan dan nasihat yang sudah kalian berikan serta kekonyolan dan kehebohan selama dikosan;
19. Murni Fitria alias racun, terimakasih karena sudah banyak mengajari penulis dalam segala hal, baik dalam perkuliahan, pergaulan, dan bahkan percintaan, *haha*;
20. Dwi Anggraini alias Dudung, *partner* revisi skripsi pembimbing 2 sekaligus *partner* ngurusin berkas-berkas yang ribet, ruwet dan rempong itu.
Pertahankan cara jalanmu yang ledom itu ya dung;
21. Maria Ulfa alias Maul, terimakasih karena sudah ikut berjuang dalam membantuku menyelesaikan persyaratan-persyaratan untuk seminar, kompre sampai wisuda;
22. Rekan-rekan se-angkatan Kimia 2012, yaitu Adi, Adit, Adam, Ajeng, Ana, Welda, Arif, Arya, Atma, Imani, Ningrum, Debi, Derry, Diani, Edi, Eka, Elsa, Erlita, Febita, Feby, Fenti, Ferdinand, Fifi, Handri, Hiqi, Indah, Indry, Ismi, Jeje, Jenny, Anwar, Meta, Rizal, Nila, Dona, Radius, Rifki, Rio (Ajumma), Putri, Ruli, Ruwai, Aisah, Imah, Sofian, Sukamto, Susy, Dela, Syathira, Tazkiya, Reno, Tiara, Debo, Wiwin, Yepi, dan Ubai, terimakasih sudah menjadi tempat berbagi suka duka selama masa kuliah.
Semoga tali silaturahmi kita tetap erat dan tak akan pernah putus;

23. Muslimah Hizbut Tahrir Indonesia (MHTI) Lampung untuk setiap ilmu dan tsaqofah islam yang telah diberikan kepada penulis;
24. Teman-teman KKN Gunung Agung Khususnya Tiyuh Mulya Sari, Sheila, mb Putri, kak Widya, Jefry, George, Gerry. Terimakasih untuk masa-masa KKN yang mengesankan, untuk suka duka dan canda tawa selama KKN.
25. Adik-adik Kimia angkatan 2013 dan 2014, untuk semangat dan dukungannya
26. Seluruh pihak yang tidak disebutkan yang telah membantu proses penyelesaian penulisan skripsi ini.

Semoga semua bantuan dan jasa yang telah diberikan kepada Penulis menambah catatan amal kebaikan dari ALLAH SWT.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun Penulis harapkan untuk perbaikan penulisan di masa mendatang. Penulis berharap penelitian ini akan bermanfaat bagi siapa saja yang membacanya.

Bandar Lampung, Agustus 2016

Penulis,

Intan Mailani

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Tujuan Penelitian	4
C. Manfaat Penelitian	5
II. TINJAUAN PUSTAKA	6
A. <i>Cyanobacteria</i> (Alga Biru-Hijau)	6
B. <i>Oscillatoria</i> sp.	7
C. Fikobiliprotein.....	9
1. Klasifikasi Fikobiliprotein	11
a. Fikoeritrin	11
b. Fikosianin.....	12
c. Allofikosianin	12
2. Ekstraksi dan Pemurnian Fikobiliprotein	13
3. Aplikasi Fikobiliprotein.....	13
a. Agen Biomedis	14
b. Agen Pewarnaan	14
c. Agen Fluorosensi	15
D. Antioksidan	15
1. Pengertian Antioksidan	15
2. Sumber Antioksidan	16
3. Mekanisme Kerja Antioksidan	17
E. Voltammetri	18
1. Elektroda.....	19
a. Elektroda Kerja	19
b. Elektroda Pembanding/Elektroda Acuan.....	20
c. Elektroda Bantu	20
2. Voltammetri Siklik	21
3. Mekanisme Pengukuran Antioksidan dengan Metode Voltammetri Siklik.....	22

4. Larutan Elektrolit.....	24
5. Elektrolit Pendukung	24
F. Asam Askorbat.....	25
G. Kromatografi Kolom.....	27
H. Spektrofotometri UV-Vis.....	29
III. METODOLOGI PENELITIAN	32
A. Waktu dan Tempat	32
B. Alat dan Bahan	32
C. Metode Penelitian.....	33
1. Kultivasi <i>Oscillatoria</i> sp.....	33
2. Pemanenan <i>Oscillatoria</i> sp.....	33
3. Ekstraksi Fikobiliprotein	34
4. Pemurnian Fikobiliprotein.....	34
5. Identifikasi Fikobiliprotein Menggunakan spektrofotometer UV-Vis ..	34
6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Voltammetri Siklik	35
a. Persiapan Alat Voltammeter.....	35
1. Elektrolit Pendukung	35
2. Pembuatan Larutan Blanko.....	35
3. Larutan Kontrol Asam Askorbat (Vitamin C)	35
4. Voltammetri	36
b. Analisis Pengukuran Aktivitas Antioksidan.....	37
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
A. Kultivasi dan Pemanenan <i>Oscillatoria</i> sp.....	38
B. Ekstraksi Fikobiliprotein.....	40
C. Pemurnian Fikobiliprotein	41
D. Identifikasi Fikobiliprotein Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis ..	42
E. Penentuan Aktivitas Antioksidan Menggunakan Voltammetri Siklik...	45
1. Voltammogram Oksidasi Molekul.....	46
2. Voltammogram Reduksi Oksigen.....	51
F. Penentuan Koefisien Aktivitas Antioksidan	55
V. PENUTUP.....	59
A. Kesimpulan	59
B. Saran	60
DAFTAR PUSTAKA	61
LAMPIRAN.....	67

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Kondisi pengukuran oksidasi molekul fikobiliprotein	36
2. Kondisi pengukuran reduksi radikal <i>Oscillatoria</i> sp.....	36
3. Indeks kemurnian dan konsentrasi fikobiliprotein.....	45
4. Data Arus Oksidasi Fikobiliprotein	48
5. Data Arus Oksidasi Asam Askorbat	50
6. Data Arus Reduksi Oksigen Fikobiliprotein.....	53
7. Data Arus Reduksi Oksigen Asam Askorbat.....	54
8. Koefisien Aktivitas Antioksidan.....	58
9. Komposisi Larutan Stok Media f/2-Si	68
10. Komposisi Larutan Stok untuk Vitamin	68
11. Komposisi <i>Trace Element</i>	69
12. Perubahan Relatif Densitas Arus Reduksi Oksigen Terhadap Konsentrasi Ekstrak Kasar Fikobiliprotein	73
13. Perubahan Relatif Densitas Arus Reduksi Oksigen Terhadap Konsentrasi Pigmen Fikosianin.....	73
14. Perubahan Relatif Densitas Arus Reduksi Oksigen Terhadap Konsentrasi Asam Askorbat.....	73

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. <i>Oscillatoria</i> sp.	8
2. Jalur biosintesis fikobiliprotein dari biliverdin	11
3. Sel Voltammetri	19
4. Elektroda yang digunakan dalam voltammetri.. ..	21
5. Voltammogram siklik reaksi reduksi-oksidasi.....	22
6. Struktur asam askorbat	25
7. Voltammogram Asam Askorbat	27
8. Skema instrumen UV-Vis	30
9. Spektrum UV-Vis dari fikosianin, fikoeritrin dan allofikosianin	31
10. Kultivasi <i>Oscillatoria</i> sp. dalam media f/2-Si	38
11. Pengamatan mikroskop konfokal morfologi <i>Oscillatoria</i> sp. dengan perbesaran 40 X.....	39
12. Hasil pemanenan <i>Oscillatoria</i> sp. dengan teknik filtrasi.....	40
13. Ekstrak fikobiliprotein hasil ekstraksi biomassa basah <i>Oscillatoria</i> sp.	41
14. Pigmen fikosianin hasil pemurnian ekstrak fikobiliprotein	42
15. Spektrum dan panjang gelombang serapan maksimum fikobiliprotein.....	43
16. Kromofor Fikosianin.....	44
17. Voltammogram oksidasi molekul fikobiliprotein	47
18. Oksidasi fikosianin pada elektroda kerja emas	49

19. Voltammogram oksidasi molekul asam askorbat	50
20. Oksidasi asam askorbat menjadi dehidroaskorbat	51
21. Voltammogram reduksi oksigen fikobiliprotein	52
22. Voltammogram reduksi oksigen asam askorbat	54
23. Kurva perubahan relatif densitas arus reduksi oksigen terhadap konsentrasi antioksidan ekstrak kasar fikobiliprotein	56
24. Kurva perubahan relatif densitas arus reduksi oksigen terhadap konsentrasi antioksidan pigmen fikosianin	56
25. Kurva perubahan relatif densitas arus reduksi oksigen terhadap konsentrasi antioksidan asam askorbat.....	57

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan negara maritim yang 70% wilayahnya merupakan laut. Untuk saat ini dan di masa mendatang, laut memegang peranan penting tidak hanya sebagai media transportasi dan pariwisata tetapi juga memiliki potensi sebagai sumber daya alam yang melimpah. Lebih lanjut, letak geografis Indonesia yang strategis diantara Samudra Indonesia dan Laut Pasifik serta iklim tropis menyebabkan perairan Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati. Ditinjau dari aspek kimia bahan alam, keragaman hayati juga mencerminkan keanekaragaman struktur senyawa metabolit sekunder.

Kajian secara intensif mengenai potensi senyawa bioaktif dari biota laut perairan Indonesia masih terbatas hanya pada *sponge*. Beberapa senyawa aktif yang bersumber dari *sponge* diantaranya antara lain agosterol A sebagai *reversal agent* MDR (Aoki *et al.*, 2001), halicyclamine A (Arai *et al.*, 2011) dan agelasine D (Arai *et al.*, 2014) sebagai *antidormant mycobacterial*. Namun perlu dipahami bahwa sumber potensial untuk kajian senyawa bioaktif tidak hanya terbatas pada *sponge*. Beberapa mikroorganisme yang berasosiasi dengan *sponge* seperti *cyanobacteria* juga memiliki potensi sebagai sumber senyawa bioaktif.

Secara umum telah diketahui bahwa *cyanobacteria* terdiri dari 150 genus dengan spesies lebih dari 2000 spesies. Selain itu, morfologi *cyanobacteria* sangat beragam dari bentuk *unicellular* dan koloni hingga berbentuk filamen bercabang maupun tak bercabang (Van den Hoek *et al.*, 1995). Kemampuan *cyanobacteria* beradaptasi dengan lingkungannya memungkinkan hidup pada berbagai ekosistem dan salah satunya mampu berasosiasi dengan berbagai jenis *sponge*. Berbagai kajian akan potensi *cyanobacteria* sebagai sumber bahan aktif yang memiliki nilai ekonomis telah banyak dilakukan. Hasil kajian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *cyanobacteria* merupakan sumber penting senyawa bioaktif untuk menunjang pengembangan industri farmasi (misal, antibakteria, antifungi, antivirus, antikanker, dll.) serta senyawa dengan nilai komersial tinggi seperti *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dan fikobiliprotein (Tan, 2007; Skulberg, 2000; Sekar dan Chandramohan, 2008).

Fikobiliprotein memiliki lingkup aplikasi yang cukup luas di sektor industri farmasi, makanan, kosmetik serta di bidang penelitian biomedik dan diagnostik klinik. Berdasarkan strukturnya, fikobiliprotein merupakan senyawa kompleks pigmen protein yang memiliki peran penting dalam proses fotosintesa *cyanobacteria*. Fikobiliprotein tersusun dalam kompleks supramolekul dan dinyatakan sebagai *phycobilisomes* (PBS). Ada tiga kelompok fikobiliprotein yang dikenal yaitu fikosianin (PC, pigmen biru), allofikosianin (APC, pigmen biru kehijauan) dan fikoeritrin (PE, pigmen merah), yang memperlihatkan serapan maksimum (λ_{\max}) secara berurutan pada 620 nm, 650 nm dan 565 nm.

Fikobiliprotein, khususnya fikosianin, yang bersumber dari berbagai jenis *cyanobacteria* telah dilaporkan memperlihatkan efek farmakologi, seperti

antioksidan, antikanker, *neuroprotective*, dan *anti-inflammatory* (Liu *et al.*, 2000 dan Romay *et al.*, 2003).

Saat ini senyawa antioksidan yang bersumber dari alam telah menjadi perhatian penting sebagai senyawa yang aman dan alternatif pengganti antioksidan sintetis. Fikobiliprotein dari *Spirulina* sp. merupakan salah satu senyawa yang telah dikaji secara lengkap berkenaan dengan potensinya sebagai antioksidan ataupun sebagai *free radical scavenging* baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Namun perlu dipahami bahwa urutan asam amino pada fikobiliprotein dapat bervariasi karena perbedaan spesies/strains *cyanobacteria*, Sehingga pengembangan kajian lebih lanjut masih sangat dibutuhkan untuk dapat memahami keragaman sifat kimia dari perbedaan fikobiliprotein yang bersumber dari *cyanobacteria* yang berbeda (Sonani *et al.*, 2015). Aspek penting lainnya dalam kajian fikobiliprotein yang perlu diperhatikan adalah metode yang telah dikembangkan untuk mengevaluasi aktivitas senyawa antioksidan sulit dibandingkan satu dengan lainnya. Sehingga dibutuhkan suatu metoda analisis yang dapat memberikan informasi lebih lengkap.

Beberapa metode yang umum digunakan untuk mengevaluasi aktivitas senyawa antioksidan diantaranya adalah menggunakan pereaksi radikal seperti ABTS (Cano *et al.*, 1998), DPPH (Sanchez *et al.*, 1998) dan spin ESR (Madsen *et al.*, 1996). Namun, semua metode tersebut membutuhkan pereaksi spesifik dan membutuhkan waktu yang relatif lama untuk penyiapan sampel. Pengukuran secara elektrokimia merupakan metode alternatif untuk menentukan aktivitas senyawa antioksidan (Kilmartin *et al.*, 2001). Cara ini telah terbukti sangat cepat

untuk menentukan kapasitas antioksidan dari berbagai senyawa organik. Pengukuran potensial oksidasi menggunakan voltametri siklik juga telah digunakan untuk membandingkan kekuatan antioksidan pada senyawa fenolik ataupun flavonoid. Bila dibandingkan dengan metode DPPH, metode ini memiliki beberapa keunggulan diantaranya murah, instrumentasi sederhana, dan cepat. Selain itu, aktivitas antioksidan dengan metode DPPH hanya dapat dilihat dari persentase inhibisi, sedangkan metode voltametri siklik dapat dilihat dari tiga parameter, yaitu daerah anode, arus, dan potensial (Arteaga *et al.*, 2012).

Dalam penelitian ini telah dilakukan kajian sifat elektrokimia dan efektivitas antioksidan dari ekstrak fikobiliprotein dari isolat *Oscillatoria* sp. dengan menggunakan metode voltametri siklik. Sebagai informasi isolat *Oscillatoria* sp., diperoleh dari hasil isolasi *cyanobacteria* yang berasosiasi dengan *sponge Callyspongia* sp. yang hidup di perairan Lampung.

B. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan karakteristik aktivitas antioksidan fikobiliprotein dari *Oscillatoria* sp dengan metode voltametri siklik.

C. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memahami pola voltammogram siklik antioksidan yang berasal dari fikobiliprotein *Oscillatoria* sp.
2. Mengetahui nilai aktivitas antioksidan fikobiliprotein yang diukur dengan metode voltametri siklik guna pengembangan kajian yang berkaitan dengan sifat antioksidan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Cyanobacteria* (Alga Biru-Hijau)

Cyanobacteria atau alga biru hijau adalah kelompok mikroalga yang paling primitif. Kelompok ini adalah organisme prokariotik yang tidak memiliki struktur-struktur sel seperti yang ada pada alga lainnya, contohnya nukleus dan kloroplas. Mereka hanya memiliki klorofil a, namun mereka juga memiliki variasi fikobilin seperti halnya karotenoid. Pigmen-pigmen ini memiliki beragam variasi sehingga warnanya bisa bermacam-macam dari mulai hijau sampai ungu bahkan merah. Alga biru hijau tidak pernah memiliki flagella, namun beberapa filamen membuat mereka bergerak ketika berhubungan dengan permukaan. Unicell, koloni, dan filamen-filamen. *Cyanobacteria* adalah kelompok yang umum dalam budidaya, baik sebagai makan maupun sebagai organisme pengganggu (Kawaroe *et al.*, 2010).

Cyanobacteria juga merupakan organisme yang penting secara ekologis dan ekonomis. Secara ekologis, organisme ini memberikan kontribusi yang signifikan terhadap produksi primer dari berbagai ekosistem, terutama air tawar dan ekosistem laut, dan memainkan peran penting dalam siklus karbon, oksigen dan nitrogen (Tomitani *et al.*, 2006). Aplikasi bioteknologi dari *Cyanobacteria* di

berbagai bidang, seperti pertanian, perikanan, pengendalian polusi (bioremediasi), bioenergi dan biofuel, dan bahan nutrisi telah terdokumentasi dengan baik (Patterson, 1996; Abed dkk, 2009). Selain itu, organisme ini dikenal untuk menghasilkan berbagai senyawa bioaktif farmakologis penting seperti antibakteri, antijamur, antivirus, antikanker, antioksidan dan relaksan otot serta bernilai komersial tinggi untuk produk-produk penting, seperti *polyunsaturated fatty acids* (PUFA) dan fikobiliprotein (Pandey *et al.*, 2007; Sekar dan Chandramohan, 2008; Eriksen, 2008).

Dalam masa pertumbuhannya, suhu optimal yang digunakan untuk kultivasi mikroalga yaitu antara 24-30 °C. Unsur hara yang dibutuhkan terdiri dari makronutrien (C, H, N, P, K, S, Mg, dan Ca) dan mikronutrien (Fe, Cu, Mn, Zn, Co, Mo, Bo, Vn, dan Si). Untuk mengasimilasi karbon anorganik untuk dikonversi menjadi materi organik dibutuhkan intensitas cahaya selama pengkultivasian mikroalga. Aerasi menggunakan CO₂ sangat dibutuhkan sebagai sumber karbon untuk fotosintesis dan mencegah terjadinya sedimentasi pada sistem kultivasi (Becker, 2004). Selain itu, derajat keasaman (pH) juga dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Umumnya pH yang digunakan antara 7-9 (Kawaroe *et al.*, 2010)

B. *Oscillatoria* sp.

Oscillatoria sp. merupakan kelompok mikroalga jenis *Cyanobacteria* (alga biru-hijau) yang paling umum yang tinggal pada habitat yang bervariasi. Desikachary (1959) menyebutkan terdapat 76 spesies *Oscillatoria*. *Oscillatoria* berbentuk tipis

kehitaman tumbuh di lingkungan yang kotor, polusi, dan air yang tenang. Selain itu *Oscillatoria* juga tumbuh di kolam, empang, tepi sungai, saluran air dan lain-lain. *Oscillatoria* adalah jenis mikroalga yang tahan terhadap berbagai kondisi.

Menurut Desikachary (1959), klasifikasi *Oscillatoria* sp adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*

Filum : *Cyanophyta*

Kelas : *Cyanophyceae*

Famili : *Oscillatoriaceae*

Genus : *Oscillatoria*



Gambar 1. *Oscillatoria* sp.

Adapun ciri-ciri dari *Oscillatoria* sp. adalah sebagai berikut:

1. Tubuh berbentuk benang (filamen) tersusun atas sel – sel yang dipilih dan rapat
2. Dapat bergerak maju mundur disebut sebagai gerak osilasi
3. Sel membelah memperpanjang tubuh, sedang penambahan individu dengan fragmentasi

4. Lebar sel dapat mencapai 6,8 mm
5. Filamen dapat bergerak dengan cara meluncur lambat.

Sel *Oscillatoria* sp. membentuk filamen panjang yang dapat pecah menjadi fragmen yang disebut *hormogonia*. *Hormogonia* ini dapat tumbuh menjadi filamen baru yang lebih panjang lagi. Pemecahan filamen biasanya terjadi ketika ada sel yang mati (*necridia*). *Oscillatoria* sp. menggunakan fotosintesis untuk hidup dan bereproduksi. Setiap filamen pada *Oscillatoria* sp. terdiri dari *trikoma* yang terbuat dari sel baris. Ujung dari *trikoma* dapat bersilasi seperti pendulum (Guiry, 2011).

Oscillatoria sp. merupakan salah satu kelompok *Cyanobacteria*. Dimana hampir semua jenis *cyanobacteria* dapat memproduksi pigmen berupa klorofil, karoten, dan juga fikobiliprotein.

C. Fikobiliprotein

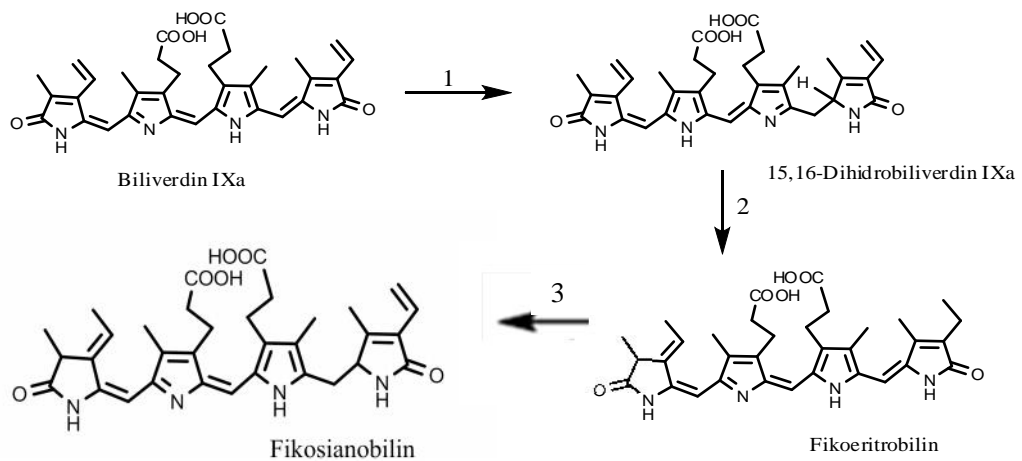
Fikobiliprotein adalah kelompok protein yang berikatan dengan gugus tetrapyrrol prostetik secara linear. Gugus prostetik tersebut disebut sebagai bilin karena kedekatan strukturnya dengan pigmen bilin yang terdapat pada manusia yaitu biliverdin dan bilirubin. Konformasi dan hambatan sterik yang dimiliki bilin di dalam lingkungan aslinya menghasilkan suatu sifat spektroskopi yang spesial yang diwujudkan dengan warna yang cemerlang dan fluoresens yang cerah pada protein ini (Glazer, 1994). Fikobiliprotein ini juga dinyatakan sebagai *phycobilisomes* (PBSs). *Phycobilisomes* merupakan kompleks supramolekular yang terdiri dari substruktur inti dan batang perifer, dan mengandung hingga

60% dari total protein di *cyanobacteria*. Terlepas dari penyerapan cahaya dan transduksi, fungsi tambahan dari PBSs sejauh ini diidentifikasi sebagai sumber nutrisi penting dalam kebutuhan nitrogen, sulfur atau karbon (Parmar *et al.*, 2011).

Fikobiliprotein dapat ditemukan pada *Cyanobacteria* atau disebut juga dengan alga biru-hijau, pada kloroplast *rhodopyta* (alga merah) dan pada *cryptophyceae*, kelas alga eukaryotik uniseluler biflagel (kriptomonad). Dari semua jenis mikroorganisme tersebut fungsi dari fikobiliprotein adalah sebagai pigmen pembantu pada proses fotosintesis. Fikobiliprotein menyerap cahaya pada kisaran panjang gelombang tampak dan mentransfer energi eksitasi ke pusat reaksi pada membran fotosintesis untuk mengubah cahaya matahari tersebut menjadi energi kimia (Glazer, 1985, 1986, 1989).

Di dalam *Cyanobacteria*, fikobiliprotein terdapat lebih dari 60% dari total fraksi protein selular larut, yang setara dengan hampir 20% dari total berat kering *cyanobacteria* (Soni *et al.*, 2008). Fikobiliprotein memiliki spektrum yang luas untuk aplikasi bioteknologi aktual dan potensial, misalnya dalam bahan nutrisi dan farmasi, industri makanan, kosmetik, penelitian biomedis, dan diagnostik klinis.

Fikobiliprotein merupakan senyawa bewarna yang larut dalam air yang terikat membentuk fikobilisome. Warna dari fikobiliprotein berasal dari gugus prostetik yang berikatan dengan kovalen dengan kromofor tetraphyrol rantai terbuka. Jalur biosintesis fikobiliprotein telah diusulkan oleh Brown *et al.*, (1984) melalui biliverdin pada Gambar 2.



Gambar 2. Jalur biosintesis fikobiliprotein dari biliverdin (Sara *et al.*, 2014).

1. Klasifikasi Fikobiliprotein



Berdasarkan urutan asam amino dan absorbansi maksimumnya, fikobiliprotein pada *Cyanobacteria* dan *rhodophyta* dapat dibagi menjadi tiga kelas yaitu : fikoeritritin (maks ~550-565 nm), fikosianin (maks ~610-625 nm), dan allofikosianin (maks 650 nm). Jika dilihat dengan mata, fikoeritritin akan terlihat berwarna merah, fikosianin akan terlihat seperti ungu (fikoeritrosianin, R-fikosianin) hingga biru pekat (C-fikosianin), dan allofikosianin terlihat sebagai warna biru sedikit hijau (Cohen, 2003). Klasifikasi fikobiliprotein adalah sebagai berikut:

a. Fikoeritritin

Fikoeritritin (PE) adalah senyawa fikobiliprotein yang berwarna merah. Fikoeritritin yang dimurnikan dari alga merah mempunyai bentuk heksamer dengan sub unit struktur ()₆ dan berat molekul 250000. Masing-masing heksamer membawa 34

bilin. Absorbs fikobiliprotein terlihat pada panjang gelombang 480 dan 570 nm. Mayoritas alga merah mengandung R-fikoeritrin, dan B-fikoeritrin. Tidak seperti fikobiliprotein lain yang digunakan sebagai pewarna makanan dan kosmetik, fikoeritrin memiliki sifat yang menguntungkan yang membuatnya cocok dalam penelitian klinis dan biologi molekuler.

b. Fikosianin

Fikosianin adalah jenis fikobiliprotein yang banyak diisolasi dari alga biru-hijau *Spirulina* sp. Seperti jenis fikobiliprotein yang lain fikosianin bersifat fluoresen, dengan absorptivitas molar yang tinggi, dan eksitasi dan emisi pada pita panjang gelombang tampak. Fikosianin adalah protein yang stabil yang dapat berikatan dengan mudah dengan antibodi dan beberapa protein lain tanpa mengubah karakteristik spektrum. Fikosianin tidak stabil terhadap panas dan cahaya dalam larutan berair, tidak larut dalam larutan asam dan terdenaturasi pada suhu diatas 45°C pada pH 5 dan 7 yang mengarah pada perubahan warna (Jespersen *et al.*, 2005).

c. Allofikosianin

Allofikosianin murni memiliki bentuk trimer ()₃ dengan berat molekul 110000. Seperti halnya fikosianin protein ini dibawa oleh sub unit fikosianobilin. Allofikosianin mempunyai absorbansi maksimum pada maks 650 dan emisi maksimum maks 660 (Glazer, 1994).

2. Ekstraksi dan Pemurnian Fikobiliprotein

Ekstraksi fikobiliprotein biasanya dilakukan dengan dilarutkan dalam buffer fosfat atau ammonium sulfat (Kuddus *et al.*, 2003). Prosedur pemurnian fikobiliprotein dari ekstrak kasar biasanya diperoleh dengan mengkombinasikan beberapa teknik yang berbeda, seperti pengendapan dengan ammonium sulfat, kromatografi pertukaran ion, dan gel kromatografi untuk mendapatkan fikosianin murni.

Metode isolasi dari fikobiliprotein telah dilaporkan dari beberapa peneliti, proses isolasi tersebut mencakup beberapa langkah diantaranya, penghancuran dinding sel dan gangguan sel, isolasi primer, pemurnian, dan karakterisasi produk akhir. Beberapa metode penghancuran dinding sel dan penghilangan beberapa gangguan sel baik metode fisik dan kimia. Metode fisik yang digunakan diantaranya sonikasi, kavitasi dan *shock osmotic*, sedangkan metode kimia adalah penggunaan asam, alkali, deterjen, enzim, dan kombinasi dari metode fisik dan kimia mencakup penghancuran dinding sel, selanjutnya klarifikasi dengan cara disentrifugasi sehingga diperoleh ekstrak fikosianin dan supernatan, dilanjutkan dengan proses fraksinasi dengan ammonium sulfat, dialysis, dan pengendapan dengan polietilen glikol. Pemurnian lebih lanjut biasanya dicapai dengan menggunakan metode kromatografi kolom menggunakan absorben, saringan molekul, penukar ion, hidroksiapetit atau kombinasi mereka (Kuddus *et al.*, 2003).

3. Aplikasi Fikobiliprotein

Menurut Pandey *et al.* (2013), fikobiliprotein mempunyai beberapa aplikasi komersil yang telah dikembangkan di beberapa bidang diantaranya sebagai:

a. Agen Biomedis

Fikobiliprotein terutama fikosianin yang diekstrak dari berbagai spesies *Cyanobacteria* telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologi, seperti antioksidan, antikanker, saraf, anti inflammasi, hepatoprotektif dan hipokolesterolemik. Hal ini dikarenakan senyawa tersebut dapat menghilangkan radikal bebas dan oksigen aktif, membunuh sel tumor dan meningkatkan aktifitas limfosit, sehingga manfaatnya sangat luas dalam industri farmasi (Sekar dan Candramohan, 2008). Ketika dievaluasi sebagai antioksidan *in-vitro*, fikobiliprotein mempunyai kemampuan untuk menarik radikal alkoksil, hidroksil dan peroksil serta menghambat peroksidasi lemak mikrosomal yang diinduksi oleh asam askorbat Fe^{2+} atau radikal bebas 2, 2' Azobis (2- amidinopropane) dihydrochloride, (AAPH) (Bhat dan Madyastha, 2000).

b. Agen Pewarnaan

Aplikasi yang menarik dari fikobiliprotein adalah kegunaannya sebagai pewarna alami dalam makanan dan kosmetik menggantikan pewarna sintetis, karena pada umumnya pewarna sintesis bersifat karsinogenik, beracun, atau kurang aman. Fikosianin banyak digunakan sebagai pewarna makanan seperti permen, eskrim, susu, dan produk makanan atau minuman ringan (C-fikosianin) dan pewarna kosmetik seperti lipstick, *eyeliner* dan *eye shadow* (C-fikosianin dan R-fikoeritrin). Sedangkan fikoeritrin banyak digunakan sebagai pewarna neon atau bahan fluoresens.

c. Agen Fluorosensi

Fikobiliprotein adalah jenis protein yang memiliki warna cerah dan bersifat sangat fluoresens. Karena sifat fluoresens mereka yang unik, fikobiliprotein dapat digunakan dalam aplikasi *flow cytometry*, fluoresens immunoassay dan mikroskop fluoresensi untuk diagnosis medis. Tinggi koefisien ekstingsi molar dan hasil kuantum fluoresensi, besar pergeseran nyala, dan kekebalan dari pendinginan oleh zat biologis secara alami adalah beberapa sifat dari fikobiliprotein yang membuat pigmen ini menjadi menarik untuk beragam aplikasi dalam sistem deteksi berbasis fluoresensi (Sekar dan Chandramohan, 2008). Dari ketiga kelompok fikobiliprotein, kelompok fikoeritrin merupakan kelompok yang banyak digunakan sebagai agen fluoresensi.

D. Antioksidan

1. Pengertian Antioksidan

Antioksidan adalah zat yang diperlukan tubuh untuk menangkap radikal bebas yang terbentuk secara berlebih di dalam tubuh (Prakasih, 2001). Radikal bebas adalah atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif. Hal ini disebabkan karena radikal bebas mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya. Antioksidan memiliki peranan yang sangat penting dalam memerangi radikal bebas. Antioksidan dalam tubuh bermanfaat untuk mencegah reaksi oksidasi yang ditimbulkan oleh radikal bebas baik berasal dari metabolisme tubuh maupun faktor eksternal lainnya, seperti cahaya matahari, bakteri, dan lain-lain. Radikal bebas akan bereaksi dengan molekul di sekitarnya untuk

memperoleh pasangan elektron supaya mencapai kestabilan atom atau molekul. Reaksi ini berlangsung terus menerus dalam tubuh dan bila tidak dihentikan akan menimbulkan berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, jantung, katarak, penuaan dini, serta penyakit lainnya (Kikuzaki dan Nakatani, 1993).

Radikal bebas yang beredar dalam tubuh berusaha untuk merusak elektron yang ada pada molekul lain dalam tubuh. Kerusakan yang ditimbulkan dapat menyebabkan molekul yang terdapat pada sel dalam tubuh menjadi tidak stabil yang berpotensi menyebabkan proses penuaan dan kanker. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan sebagai senyawa pendonor elektron kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat (Winarsi, 2007).

2. Sumber Antioksidan

Menurut Dalimartha dan Soediby (1999), berdasarkan sumber perolehannya antioksidan terbagi menjadi 2 macam, yaitu :

- a. Antioksidan alami adalah antioksidan yang diperoleh secara alami yang sudah ada pada bahan pangan, baik yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan maupun yang diisolasi dari sumber alami dan digunakan sebagai bahan tambahan makanan. Contoh antioksidan alami antara lain: Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, Polifenol, Glutation, asam ellagic, dan lain-lain.
- b. Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia dan telah diproduksi untuk tujuan komersial. Contoh antioksidan sintetis antara lain: Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi

Toluen (BHT), Propil galat, Tert-Butil Hidoksi Quinon (TBHQ), Tokoferol, dan lain-lain.

3. Mekanisme Kerja Antioksidan

Senyawa antioksidan secara umum menghambat oksidasi substrat yang terjadi dalam tiga tahap utama, yaitu: inisiasi, propagasi, dan terminasi. Tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal substrat, yaitu turunan substrat yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat hilangnya satu atom H. Radikal substrat akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi pada tahap propagasi. Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang substrat yang menghasilkan hidroperoksida dan radikal substrat baru (Javanmardi *et al.*, 2003).

Antioksidan mampu mendeaktivasi radikal melalui dua mekanisme utama, yaitu perpindahan atom hidrogen (PAH) dan perpindahan elektron bebas (PEB). Metode PAH mengukur kemampuan dari antioksidan dalam menstabilkan radikal bebas dengan memberikan atom hidrogennya, sedangkan metode PEB mengukur kemampuan antioksidan melalui proses transfer elektron untuk mereduksi berbagai senyawa, seperti logam, karbonil, dan radikal (Prior *et al.*, 2005).

Metode elektrokimia untuk antioksidan dan penentuan kapasitas antioksidan telah banyak diterapkan dan memiliki keuntungan berupa sensitivitas, kecepatan, sederhana dan instrumentasi yang relatif murah, volume sampel sedikit, dengan kemajuan alat penelitian yang digunakan. Salah satu aspek yang mendukung metode elektrokimia adalah elektroaktivitas dari banyak antioksidan, transfer elektron yang terlibat dalam antioksidan - reaksi radikal bebas, yang memungkinkan analisa cepat dari kapasitas antioksidan dari serangkaian

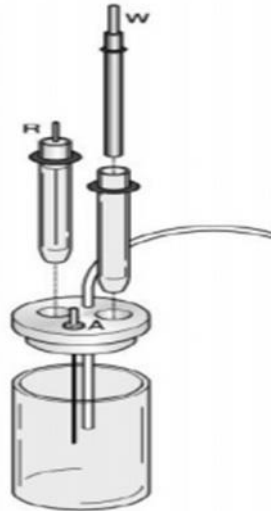
biocompounds organik bahkan dalam sampel kompleks atau berwarna (de Lima *et al.*, 2007).

E. Voltammetri

Voltammetri adalah metode elektrokimia dengan pengukuran arus sebagai fungsi potensial. Metode voltammetri mengaplikasikan suatu potensial pada sebuah sel elektrokimia dan arus yang mengalir melalui sel diukur sebagai fungsi dari potensial. Plot arus sebagai fungsi potensial disebut voltammogram.

Voltammogram menampilkan informasi kualitatif dan kuantitatif tentang spesi yang terlibat pada reaksi oksidasi dan reduksi (Harvey, 2000). Dalam teknik voltammetri, potensial yang diberikan dapat diatur sesuai keperluan. Kelebihan dari teknik ini adalah sensitifitasnya yang tinggi, limit deteksi yang rendah dan memiliki daerah linier yang lebar.

Sinyal eksitasi yang dihasilkan dalam sel kimia pada metode voltammetri memiliki 4 bentuk diantaranya adalah linear scan, differential pulse, square wave, dan triangular (cyclic voltametry) (Skoog *et al.*, 1996). Sel voltammetri sendiri terdiri dari tiga elektroda, yaitu: elektroda kerja, elektroda pembanding, dan elektroda bantu. Adapun sel voltammetri dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Sel Voltametri, W: Elektroda kerja, R : Elektroda pembanding, A :Elektroda bantu (Monk, 2001).

1. Elektroda

Elektroda merupakan komponen yang mengalami kontak langsung dengan zat yang dapat diukur. Biasanya, dalam satu sel voltametri terdapat tiga jenis elektroda yaitu elektroda kerja, elektroda pembanding dan elektroda bantu.

a. Elektroda Kerja

Elektroda kerja merupakan tempat terjadinya reaksi reduksi atau oksidasi dari analit. Elektroda kerja biasanya digunakan sebagai salah satu elemen dalam sistem tiga elektroda. Elektroda kerja dapat berperan sebagai katoda maupun anoda tergantung dari jenis reaksi elektroda tersebut. Potensial elektroda kerja dapat divariasikan terhadap waktu untuk mendapatkan reaksi yang diinginkan dari analit. Beberapa bahan yang biasa digunakan sebagai elektroda kerja yaitu merkuri (Hg), emas (Au), platina (Pt), dan karbon inert seperti glassy carbon

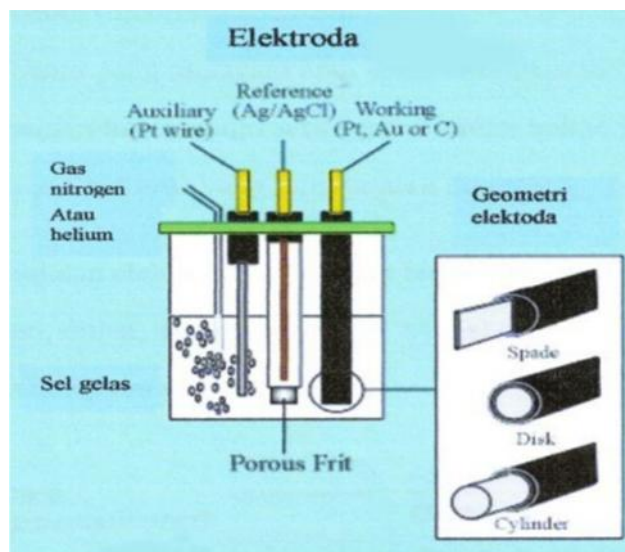
ataupun elektroda lapis tipis dan tetes raksa (Wang, 2000). Teknik voltametri memungkinkan penggunaan berbagai jenis elektroda kerja yang disesuaikan dengan kebutuhan pengukuran. Kinerja elektroda kerja menentukan keberhasilan teknik ini. Pemilihan elektroda kerja yang digunakan bergantung pada analit yang akan dianalisis dan arus latar belakang pada daerah potensial pengukuran. Hal-hal yang perlu diperhatikan adalah jendela potensial elektroda, konduktivitas listrik, sifat-sifat mekanik, ketersediaan, dan toksisitas. Elektroda kerja yang paling umum dan banyak yang digunakan adalah raksa, karbon, dan logam mulia seperti platina dan emas (Wang, 2000).

b. Elektroda Pembanding/Elektroda Acuan

Elektroda pembanding adalah elektroda dengan potensial yang dibuat tetap selama pengukuran dan nilainya tidak bergantung pada jenis dan komposisi larutan yang diukur. Elektroda ini berfungsi untuk mengontrol arus yang mengalir pada elektroda kerja dan larutan. Elektroda yang umum digunakan sebagai elektroda pembanding adalah elektroda kalomel atau Ag/AgCl.

c. Elektroda Bantu

Elektroda bantu disebut juga *counter electrode*, adalah elektroda pada sel elektrokimia bersamaan dengan elektroda kerja. Elektroda ini digunakan untuk mengalirkan arus antara elektroda kerja dan elektroda bantu, sehingga arus dapat diukur. Umumnya digunakan bahan yang bersifat inert, seperti kawat platina (Pt) atau emas (Au), dan bahkan grafit. Elektroda yang digunakan dalam voltametri dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 4. Elektroda yang digunakan dalam voltammetri

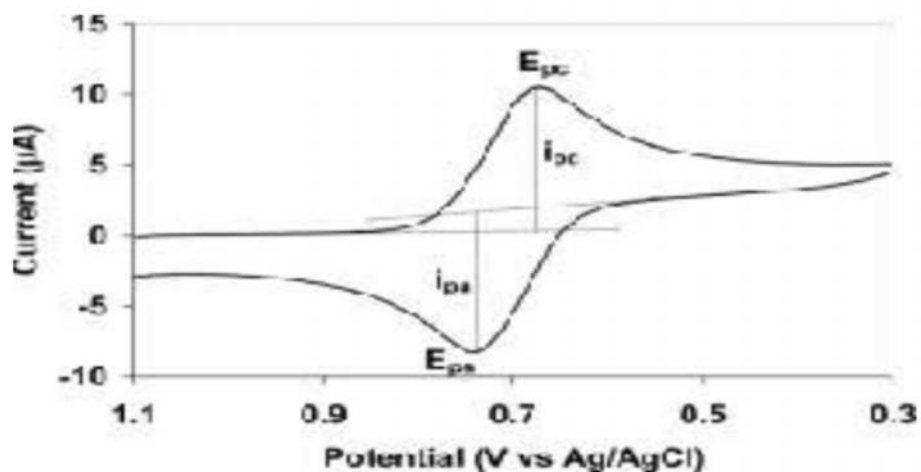
2. Voltammetri Siklik

Voltammetri siklik adalah teknik yang paling luas digunakan untuk mendapatkan informasi kualitatif dan kuantitatif tentang reaksi elektrokimia. Voltammetri siklik digunakan sebagai eksperimen awal pada studi elektroanalisis. Secara khusus, metode ini digunakan untuk menentukan lokasi dari potensial redoks dari spesi elektroaktif secara cepat dan memberikan evaluasi yang baik dari pengaruh media terhadap proses redoks secara keseluruhan (Wang, 1994).

Voltammetri siklik merupakan teknik voltammetri berdasarkan pengukuran arus selama penyapuan potensial dari potensial awal ke potensial akhir dan kembali lagi ke potensial awal atau disebut juga penyapuan (scanning) dapat dibalik kembali setelah reduksi berlangsung. Dengan demikian arus katodik maupun anodik dapat terukur. Arus katodik adalah arus yang digunakan pada saat

penyapuan dari arus yang paling besar menuju arus yang paling kecil dan arus anodik adalah sebaliknya (Khopkar, 2002).

Hasil dari voltametri siklik ini adalah hubungan antara arus dan potensial disebut voltammogram siklik seperti dapat dilihat pada Gambar 4.



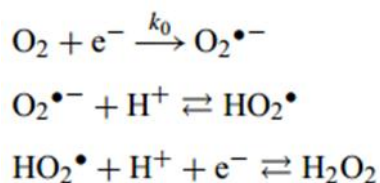
Gambar 5. Voltammogram siklik reaksi reduksi-oksidasi

3. Mekanisme Pengukuran Antioksidan dengan Metode Voltametri Siklik

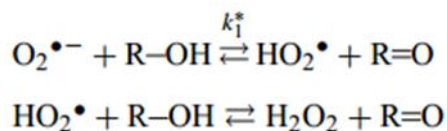
Pengukuran kapasitas antioksidan menggunakan metode voltametri siklik dilakukan berdasarkan perpindahan elektron bebas. Pengukuran didasarkan pada daerah anode yang dihasilkan dari voltammogram. Kurva yang dihasilkan daerah anode bergantung pada donor elektron suatu zat antioksidan ke suatu senyawa yang mengandung radikal. Besarnya kapasitas antioksidan dengan menggunakan voltametri siklik diukur berdasarkan donor elektron suatu zat antioksidan tersebut yang dihasilkan pada daerah anode tempat terjadinya donor elektron (Campanella *et al.*, 2006).

Penelitian Korotkova *et al.*, 2002 memberikan informasi bahwa potensi antioksidan dapat dinyatakan dalam koefisien aktivitas antioksidan yang merupakan slope dari perubahan konsentrasi berbanding densitas arus reduksi oksigen. Densitas arus reduksi merupakan hasil bagi dari arus yang dihasilkan dengan luas permukaan elektroda pada proses pemindaian voltametri.

Metode voltametri menggunakan proses *electroreduction oksigen* (ER₂) sebagai reaksi modeling. Proses ini mirip dengan reduksi oksigen dalam jaringan dan ekstrak tumbuhan. Dalam penelitian Korotkova *et al* (2005), pendekatan yang efektif dan aman untuk penentuan aktivitas antioksidan dari suatu zat diselidiki dengan merekam arus reduksi oksigen elektrokimia (ER O₂) pada elektroda film merkuri (MFE) dalam beberapa tahap dengan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS), seperti O₂^{•-} dan HO₂[•].



Pendekatan ini memungkinkan untuk mengevaluasi interaksi antara antioksidan dan ROS. Interaksi ini berdasarkan pada mekanisme berikut:



dimana ROH adalah bentuk berkurangnya antioksidan dan RO adalah bentuk teroksidasi (Korotkova *et al.*, 2005).

4. Larutan Elektrolit

Analisis secara elektrokimia, tidak ada pelarut tunggal yang ideal. Pemilihan pelarut biasanya berdasarkan beberapa faktor diantaranya didasarkan pada konduktifitas, kemampuan melarutkan elektrolit dan elektroaktif analit, aktifitas redoks, dan reaktifitas dengan materi yang diteliti. Pelarut tidak boleh menimbulkan efek adsorpsi dari elektroaktif analit pada elektroda. Pelarut juga harus tidak bereaksi dengan analit atau dengan produk dan harus tidak mengalami reaksi elektrokimia pada range potensial berlebih (Gosser, 1993; Reiger, 1993). Larutan elektrolit merupakan kombinasi dari pelarut dan elektrolit pendukung. Pemilihan larutan elektrolit bergantung pada aplikasinya. Larutan elektrolit digunakan untuk mengurangi hambatan dari larutan, menambah konduktifitas dan mengontrol potensial selama penelitian untuk mengurangi efek migrasi elektron yang mempengaruhi arus yang terukur tidak hanya terukur dari analit yang berdifusi melainkan juga dari migrasi (Skoog, et al., 1992), serta mempertahankan agar kekuatan ion konstan (Wang, 1994).

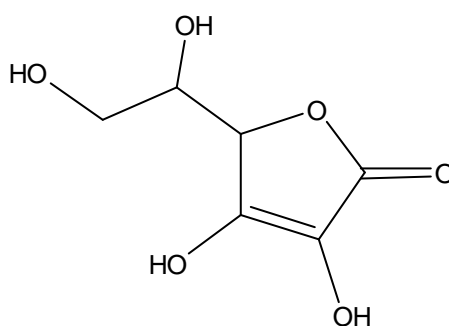
5. Elektrolit Pendukung

Elektrolit pendukung merupakan larutan inert yang dapat berupa klorida, nitrat, dan sulfat dari Li, Na, dan K, perklorat dari Li, Na dan garam-garam dari basa tetraalkilamonium. Selain itu, larutan elektrolit pendukung juga dapat berupa garam anorganik, asam mineral dan buffer. Elektrolit pendukung yang digunakan pada analisis dikendalikan oleh potensial bertujuan untuk mengurangi tahanan dari larutan dan efek elektromigrasi serta menjaga kekuatan ion.

Syarat elektrolit pendukung diantaranya memiliki rentang potensial standar yang berbeda dari analit yang diperiksa (setidaknya 100-200 mV). Dalam pemilihan elektrolit pendukung ini, diharapkan tidak mengganggu reaksi pada elektroda. Konsentrasi larutan elektrolit ini biasanya antara 0,01 M – 1 M (Brett dan Brett, 1994).

F. Asam Askorbat

Asam askorbat atau vitamin C memiliki nama sistematis IUPAC (5R)-[(1S)-1,2-dihidroksetil]-3,4-dihidroksifuran-2(5H)-on. Rumus kimia vitamin C adalah $C_6H_8O_6$ dengan berat molekul 176 gram/mol. Zat ini berwujud kristal putih kekuningan dengan kelarutan yang tinggi dalam air. Nama askorbat berasal dari kata *a* - yang berarti tanpa dan *scorbotus* yang merupakan suatu penyakit akibat devisiensi vitamin C (Kumar *et al.*, 2011). Struktur molekul vitamin C adalah seperti Gambar 6.



Gambar 6. Struktur asam askorbat

Struktur molekul asam askorbat Vitamin C berperan cukup penting dalam tubuh organisme. Senyawa ini memiliki dua stereoisomer yaitu D-Asam askorbat dan

L-Asam askorbat. L-Asam askorbat bertindak sebagai donor elektron untuk 11 (sebelas) jenis enzim pada berbagai organisme. Askorbat juga dapat bertindak sebagai kofaktor dalam reaksi yang dikatalisis oleh sejumlah enzim oksigenase. Enzim-enzim tersebut diantaranya adalah peptidil glisin monooksigenase dan amidasi monooksigenase. Ini berarti vitamin C berperan sebagai agen pereduksi atau sebagai antioksidan (Linster dan Schaftingen, 2006).

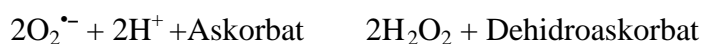
Sebagai zat penyapu radikal bebas, vitamin C dapat langsung bereaksi dengan anion superoksida, radikal hidroksil, oksigen singlet dan lipid peroksida. Sebagai reduktor asam askorbat akan mendonorkan satu elektron membentuk semidehidroaskorbat yang tidak bersifat reaktif dan selanjutnya mengalami reaksi disproporsionasi membentuk dehidroaskorbat yang bersifat tidak stabil.

Dehidroaskorbat akan terdegradasi membentuk asam oksalat dan asam treonat.

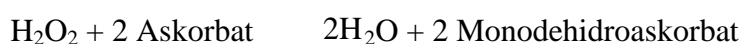
Oleh karena kemampuan vitamin C sebagai penghambat radikal bebas, maka peranannya sangat penting dalam menjaga integritas membran sel (Suhartono *et al.*, 2007).

Reaksi askorbat dengan superoksida secara fisiologis mirip dengan kerja enzim *super oksida dismutase* (SOD) sebagai berikut (Asada, 1992):

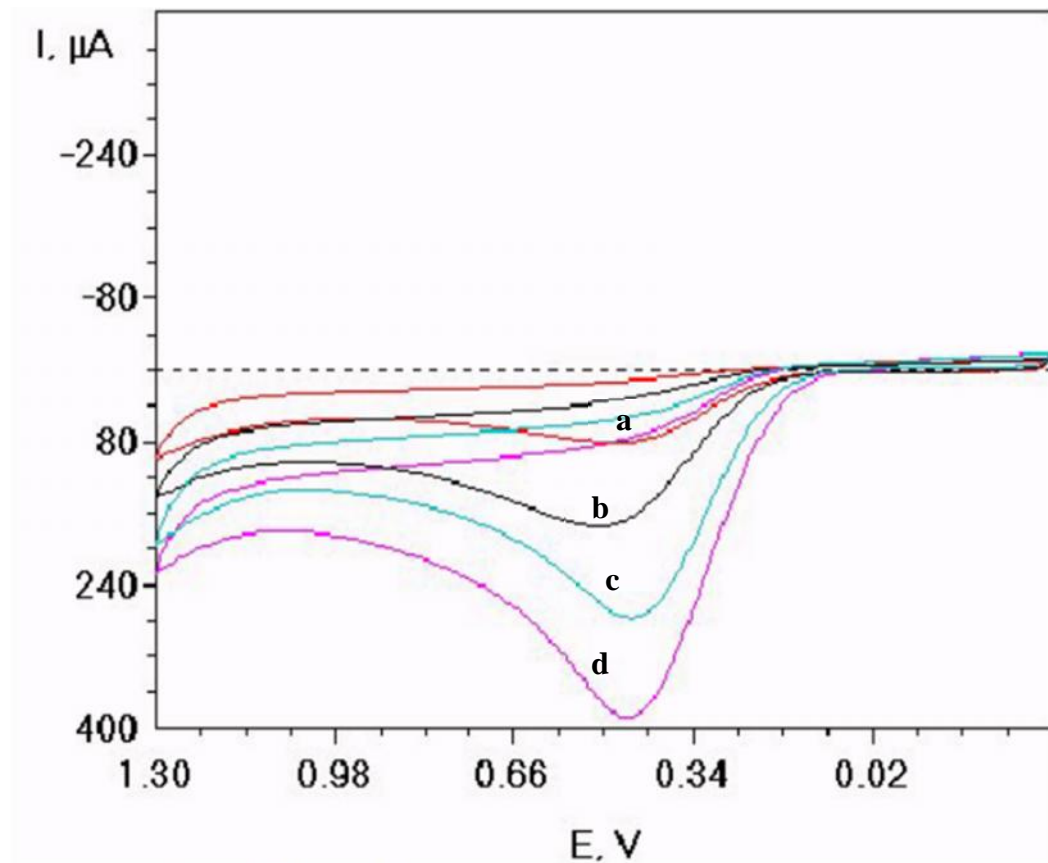
1. Reaksi asam askorbat dengan superoksida



2. Reaksi dengan hidrogen peroksida dikatalisis oleh enzim askorbat peroksidase



Berikut ini merupakan contoh voltammogram dari asam askorbat sebagai perbandingan sampel antioksidan dalam penelitian yang dilakukan oleh Campanella *et al.*, (2006) dengan variasi konsentrasi asam askorbat 0,5; 1; 1,5; dan 2 mM dalam pelarut buffer fosfat.



Gambar 7. Voltammogram peningkatan konsentrasi asam askorbat (a= 0,5; b= 1; c= 1,5; d= 2 mM) (Campanella *et al.*, 2006).

G. Kromatografi Kolom

Kromatografi Kolom merupakan metode pemisahan yang didasarkan pada pemisahan daya adsorpsi suatu adsorben terhadap suatu senyawa, baik pengotornya maupun hasil isolasinya. Seberapa jauh komponen itu dapat diserap

absorben tergantung pada sifat fisika komponen tersebut. Prinsip kerja kromatografi kolom perbedaan daya serap dari masing-masing komponen, campuran yang akan diuji, dilarutkan dalam sedikit pelarut lalu dimasukkan lewat puncak kolom dan dibiarkan mengalir kedalam zat menyerap. Senyawa yang lebih polar akan terserap lebih kuat sehingga turun lebih lambat dari senyawa non polar terserap lebih lemah dan turun lebih cepat. Zat yang diserap dari larutan secara sempurna oleh bahan penyerap berupa pita sempit pada kolom. Pelarut lebih lanjut dengan/tanpa tekanan udara masing-masing zat akan bergerak turun dengan kecepatan khusus sehingga terjadi pemisahan dalam kolom (Sastrohamidjojo, 2004)

Pemisahan komponen campuran melalui kromatografi adsorpsi tergantung pada kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang teradsorb pada permukaan dari fase diam padatan dan pelarut dalam fase cair. Tingkat adsorpsi komponen tergantung pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak cair. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar akan teradsorb lebih kuat pada permukaan fase padatan. Aktivitas adsorben tergantung komposisi kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Braithwaite and Smith, 1995).

Solven murni atau sistem solven tunggal dapat digunakan untuk mengelusi semua komponen. Pemilihan solven eluen tergantung pada jenis adsorben yang digunakan dan kemurnian senyawa yang dipisahkan. Solven harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Keberadaan pengganggu seperti air, alkohol, atau asam pada solven yang kurang polar akan mengganggu aktivitas adsorben (Braithwaite and Smith, 1995).

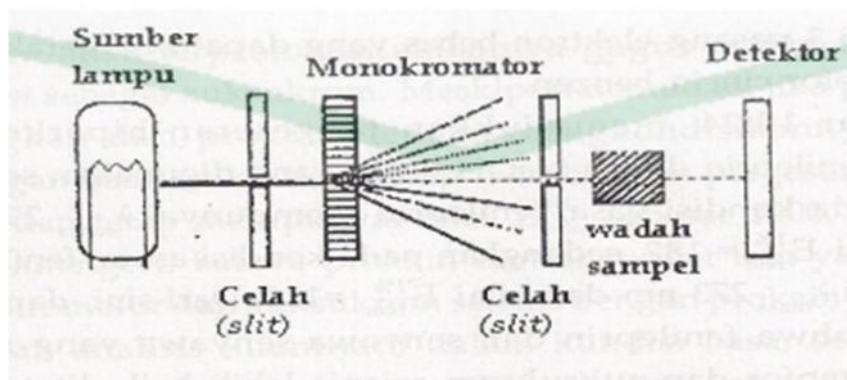
H. Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis adalah alat yang digunakan untuk mengukur serapan yang dihasilkan dari interaksi kimia antara radiasi elektromagnetik dengan molekul atau atom dari suatu zat kimia pada daerah UV-Vis. Spektrofotometer UV-Vis adalah anggota teknik analisis spektroskopik yang memakai sumber radiasi elektromagnetik ultraviolet (190-380 nm) dan sinar tampak (380-780 nm) dengan memakai instrumen spektrofotometer (Harmita, 2006).

Spektrofotometer UV-Vis merupakan metode analisa yang penggunaannya cukup luas, baik untuk analisa kualitatif maupun kuantitatif. Untuk analisa kuantitatif yang diperhatikan adalah:

- a. Membandingkan maksimum
- b. Membandingkan serapan (A), daya serap (a)
- c. Membandingkan spektrum serapannya

Prinsip dari spektrofotometri UV-Vis adalah mengukur jumlah cahaya yang diadsorpsi atau ditransmisikan oleh molekul-molekul di dalam larutan. Ketika panjang gelombang cahaya ditransmisikan melalui larutan, sebagian energi cahaya tersebut akan diserap (diadsorpsi). Besarnya kemampuan molekul-molekul zat terlarut untuk mengadsorpsi cahaya pada panjang gelombang tertentu dikenal dengan istilah absorbansi (A), yang setara dengan nilai konsentrasi larutan tersebut dan panjang berkas cahaya yang dilalui (biasanya 1 cm dalam spektrofotometri) ke suatu point dimana persentase jumlah cahaya yang ditransmisikan atau diadsorpsi diukur dengan phototube.



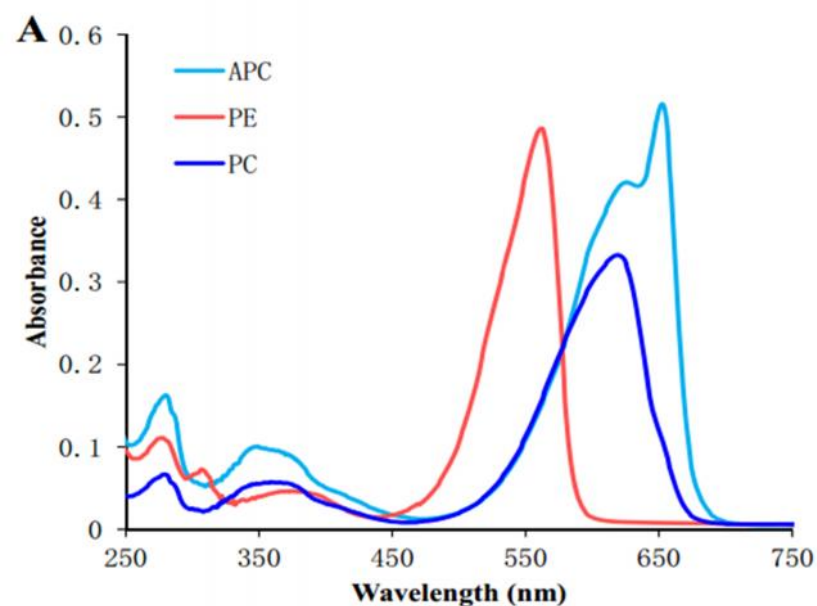
Gambar 8. Skema instrument UV-Vis

Sampel yang sering dianalisis dengan spektrofometer UV-Vis adalah senyawa organik. Senyawa organik yang dapat memberikan serapan adalah senyawa yang memiliki gugus kromofor dan auksokrom. Gugus kromofor adalah gugus fungsional tidak jenuh yang memberikan serapan pada daerah ultraviolet atau cahaya tampak. Hampir semua kromofor mempunyai ikatan rangkap seperti alkena ($C=C$), $C=O$, $-NO_2$, benzene, dan lain-lain. Sedangkan auksokrom adalah gugus fungsional seperti $-OH$, $-NH_2$, $-X$, yaitu gugus yang mempunyai elektron nonbonding dan tidak mengabsorpsi radiasi pada di atas 200 nm, akan tetapi mengabsorpsi radiasi UV jauh (Harmita, 2006).

Panjang gelombang dimana absorpsi spektrum maksimum disebut panjang gelombang maksimum (λ_{maks}). Pengukuran ditunjukkan untuk menghitung jumlah senyawa dalam sampel. Jika konsentrasi senyawa semakin tinggi maka lebih banyak cahaya yang diabsorpsi oleh sampel (Harmita, 2006).

Pengukuran konsentrasi fikobiliprotein menggunakan UV-Vis dapat dilakukan dengan mengukur spektrum pigmen fikobiliprotein pada panjang gelombang 300-

700 nm. Berdasarkan serapan pada panjang gelombang maksimum yang didapatkan dengan mengukur serapan larutan pada panjang gelombang tertentu, maka dapat dihitung kadar pigmen fikobiliprotein. Gambar 9. merupakan salah satu contoh kurva absorbansi dari fikobiliprotein berdasarkan panjang gelombang maksimum dari fikosianin, fikoeritrin dan allofikosianin yang diisolasi dari *Lyngbya* sp. A09DM.



Gambar 9. Spektrum UV-Vis dari fikosianin, fikoeritrin dan allofikosianin yang diisolasi dari *Lyngbya* sp. A09DM (Singh *et al.*, 2015).

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung dari bulan Maret - Juli 2016.

B. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Laminar Air Flow, aerator, alat-alat gelas merk pyrex (erlenmeyer, gelas ukur, pipet tetes, labu ukur, gelas kimia, pipet volum), botol film ukuran 10 mL, lampu TL 40 Watt, sentrifugasi, mikroskop cahaya, ultrasonik, neraca analitik (merk Wigger Housser), Spektrofotometer UV-Vis (*Cary Eclipse 100*), dan 1 set alat Potentiostat (eDAQ Pty Ltd) yang terdiri dari elektroda kerja emas, elektroda referensi Ag/AgCl, elektroda bantu platina, dan sel elektrokimia berukuran 2,5 mL.

Bahan-bahan yang digunakan antara lain media F/2-Si yang terdiri dari NaNO_3 , $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, *Trace Element* ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), larutan vitamin (Biotin (vit H), Cyanokobalamin (vit B12)), air laut, larutan standar

vitamin C, *aquapure*, buffer fosfat, serta bahan-bahan pendukung seperti tisu, alumunium foil, dan sebagainya. Biomaterial yang digunakan adalah isolat mikroalga *Oscillatoria* sp., diperoleh dari UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi Universitas Lampung.

C. Metode Penelitian

1. Kultivasi *Oscillatoria* sp.

Metode kultivasi mengacu pada metode yang dilakukan Guillard (2005) yang dimodifikasi. Sebanyak 200 mL media f/2-Si dimasukkan ke dalam labu kultur dan ditambahkan dengan 25 mL kultur *Oscillatoria* sp. Induk dan dikultivasi selama satu minggu, pada suhu ruang, dengan sistem aerasi ke dalam media dan sistem pencahayaan selama 24 jam menggunakan lampu TL 40 watt. Kultur tersebut kemudian diperbesar hingga skala 10 L, serta waktu kultivasi selama satu minggu. Morfologi mikroalga *Oscillatoria* sp. diidentifikasi menggunakan mikroskop konfokal dengan perbesaran 40X (Bold and Wynne, 1985).

2. Pemanenan *Oscillatoria* sp.

Pemanenan biomassa *Oscillatoria* sp. dilakukan menggunakan teknik filtrasi atau penyaringan menggunakan kain saring 380-500 mesh. (Vonshak, 2002). Isolat *Oscillatoria* sp. dipanen setelah kondisi optimum (± 8 hari). Biomassa basah yang diperoleh dikumpulkan dan disimpan dalam lemari pendingin (suhu 4 °C) jika tidak langsung digunakan.

3. Ekstraksi Fikobiliprotein

Biomassa *Oscillatoria* sp. selanjutnya diekstraksi menggunakan larutan buffer fosfat 50 mM pH 7. Prosedur ekstraksi dilakukan dengan cara menambahkan larutan buffer fosfat ke dalam biomassa *Oscillatoria* sp. yang akan diekstraksi. Campuran biomassa dan buffer fosfat dengan perbandingan 1 gr/5 ml disonifikasi selama 30 menit agar homogen. Selanjutnya disentrifugasi untuk memisahkan fikobiliprotein dari biomassa *Oscillatoria* sp. dengan kecepatan minimum 12.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4 °C. Kemudian supernatan dipisahkan dari endapan. Hasil sentrifus didekantasi dan ekstrak fikobiliprotein digunakan untuk dianalisis lebih lanjut menggunakan voltametri siklik.

4. Pemurnian Fikobiliprotein

Fikobiliprotein dimurnikan dengan menggunakan metode kromatografi kolom. Kolom fluorapetit terlebih dahulu dicuci dengan menggunakan buffer fosfat dan NaCl untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel pada permukaan. Selanjutnya, ekstrak fikobiliprotein dimasukkan ke dalam kolom dan dielusi dengan buffer fosfat pH 7.

5. Identifikasi Fikobiliprotein Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Identifikasi fikobiliprotein dan penentuan konsentrasi ekstrak kasar dan pigmen murni dilakukan dengan mengukur spektrum dan serapan fikobiliprotein pada panjang gelombang 200-800 nm.

6. Pengukuran Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Voltammetri Siklik

a. Persiapan Alat Voltammeter

1. Elektrolit Pendukung

Padatan KNO_3 ditimbang sebanyak 0,253 gram kemudian diencerkan dengan aquapure dalam labu ukur 25 mL dan dihomogenkan sehingga diperoleh larutan KNO_3 0,1 M yang digunakan sebagai larutan elektrolit pendukung.

2. Pembuatan Larutan Blangko

Larutan buffer fosfat dipipet sebanyak 2 mL kemudian ditambah dengan elektrolit pendukung 0,5 mL KNO_3 0,1 M dan dihomogenkan sehingga diperoleh larutan blangko. Untuk penentuan kapasitas antioksidan, larutan blangko dibuat duplo yaitu tanpa dan dengan kandungan oksigen. Larutan blangko tanpa oksigen dibuat dengan cara dijenuhkan dengan gas nitrogen selama 5 menit.

3. Larutan Kontrol Asam Askorbat (Vitamin C)

Asam Askorbat ($M_r = 176$ mol/gram) ditimbang sebanyak 0,022 gram kemudian dilarutkan dalam buffer fosfat dalam labu ukur 25 mL dan dihomogenkan sehingga diperoleh larutan stok vitamin C 5 mM. Selanjutnya dibuat larutan kerja Asam Askorbat dari larutan stok 5 mM dengan cara pengenceran. Larutan kerja Asam Askorbat yang digunakan untuk analisis adalah konsentrasi 1 mM, 1,5 mM, dan 2 mM.

4. Voltammetri

Pada penelitian ini digunakan alat potensiostat (eDaQ Potentiostat). Alat voltammeter dilengkapi dengan sambungan USB yang dapat terhubung pada laptop untuk melihat grafik oksidasi dan reduksi. Alat ini juga dilengkapi dengan tiga elektroda, diantaranya elektroda kerja emas, elektroda bantu platina dan elektroda *reference* perak/perak klorida. Digunakan sel elektrokimia bervolume 2,5 mL untuk larutan kerja yang akan diuji aktivitas antioksidannya. Alat diatur dengan beberapa kondisi pengukuran oksidasi molekul dan reduksi radikal fikobiliprotein yang disajikan pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Kondisi Pengukuran Oksidasi Molekul Fikobiliprotein

Parameter	Keterangan
Mode	Siklik
Initial E	0 mV
Final E	1600 mV
Laju selusur	100 mV/detik
Range arus	200 μ A

Tabel 2. Kondisi Pengukuran Reduksi Radikal

Parameter	Keterangan
Mode	Siklik
Initial E	0 mV
Final E	-1300 mV
Laju selusur	100 mV/detik
Range arus	200 μ A

b. Analisis Pengukuran Aktivitas Antioksidan

Disusun sel elektrokimia yang terdiri dari tiga elektroda yaitu elektroda pembanding (Ag/AgCl), elektroda kerja (Au) dan elektroda bantu yaitu Platina. Dihubungkan elektroda pembanding / elektroda kerja / elektroda bantu pada konektor potensiostat yang sesuai, yaitu elektroda kerja dihubungkan pada kabel berwarna hijau, elektroda pembanding dihubungkan pada kabel berwarna kuning, dan elektroda bantu yaitu Platina dihubungkan pada kabel berwarna merah. Dihidupkan potensiostat dan komputer yang terhubung dengan alat tersebut serta dijalankan *software* yang mengontrol proses analisis voltametri. Larutan pertama dalam proses ini adalah larutan blangko yaitu pelarut buffer fosfat 2 mL dimasukkan ke dalam sel elektrokimia dan ditambahkan elektrolit pendukung KNO_3 sebanyak 0,5 mL. Pengukuran larutan blangko tanpa oksigen akan dihasilkan arus yang dinyatakan sebagai nilai arus residual (I_{res}). Pengukuran larutan blangko yang mengandung oksigen akan menghasilkan arus yang dinyatakan sebagai nilai limit arus oksigen (I_{or}). Kemudian perlakuan yang sama dilakukan pada larutan hasil ekstraksi fikobiliprotein dengan variasi konsentrasi 5%; 10%; 15%; 20% (v/v) dan diberi penambahan 0,5 mL elektrolit pendukung KNO_3 . Perubahan yang terjadi diamati pada profil voltammogram yang dihasilkan. Setiap dilakukan pengukuran, elektroda dibilas dengan akuades. Pengukuran juga dilakukan untuk kontrol positif, yaitu Asam Askorbat. Pengukuran larutan standar antioksidan dilakukan dari konsentrasi terendah ke konsentrasi tertinggi, kemudian dilanjutkan dengan pengukuran larutan sampel.

V. PENUTUP

A. Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari penelitian ini adalah :

1. Berdasarkan pola voltammogram, diperoleh hasil bahwa fikobiliprotein dari *Oscillatoria* sp. memiliki kemampuan sebagai antioksidan.
2. Berdasarkan arus oksidasi dan nilai koefisien aktivitas yang dihasilkan, dalam konsentrasi yang lebih rendah dari asam askorbat, fikobiliprotein memiliki kekuatan antioksidan yang lebih besar dibandingkan asam askorbat.
3. Ekstrak kasar maupun pigmen murni fikobiliprotein dalam penelitian ini memiliki kemampuan yang setara sebagai antioksidan dengan koefisien aktivitas antioksidan masing-masing sebesar 0.043 dan 0.048.
4. Penentuan aktivitas antioksidan menggunakan metode voltametri siklik dapat digunakan sebagai alternatif untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari fikobiliprotein.

B. Saran

1. Rasio kemurnian fikobiliprotein masih terbilang cukup rendah, sehingga diperlukan analisis lebih lanjut untuk mendapatkan rasio kemurnian fikobiliprotein menggunakan metode pemurnian yang berbeda.
2. Analisis lebih lanjut secara voltametri dengan melakukan validasi dan verifikasi metode untuk memenuhi persyaratan penggunaan parameter dari penelitian yang telah dilakukan.
3. Penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk mendapatkan informasi mengenai mekanisme radikal lain terhadap fikobiliprotein.
4. Modifikasi terhadap struktur fikobiliprotein untuk mengetahui pengaruhnya dengan radikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Abed, R. M., M. S. Dobretsov and K. Sudesh. 2009. Applications of cyanobacteria in biotechnology. *J. Appl. Microbiol.* 106: 1-12.
- Aoki, S., Z. S. Chen., K. Higasiyama., A. Setiawan., S. Akiyama and M. Kobayashi. 2001. Reversing effect of agosterol a, a spongean sterol acetate, on multidrug resistance in human carcinoma cells. *Jpn. J. Cancer Res.* 92: 886–895.
- Arai, M., L. Liu., T. Fujimoto., A. Setiawan and M. Kobayashi. 2011. DedA protein relates to action-mechanism of halicyclamine A, a marine spongean macrocyclic alkaloid, as an anti-dormant mycobacterial substance . *Mar. Drugs.* 9: 984-993
- Arai, M., Y. Yamano., A. Setiawan and Kobayashi, M. 2014. Identification of the target protein of agelasine d, a marine sponge diterpene alkaloid, as an anti-dormant mycobacterial substance. *ChemBioChem.* 15: 117 – 123.
- Asada, K. 1992. Ascorbate peroxidase-hydrogen peroxyde scavenging enzyme in plants. In: *Physiologia Plantarum.* 85: 23241.
- Arteaga, J. F., M. Ruiz-Montoya., A. Palma., G. S. Alonso-Garrido., J. M. Rodríguez-Mellado. 2012. Comparison of the simple cyclic voltammetry (CV) and DPPH assays for the determination of antioxidant capacity of active principles. *Molecules.* 17: 5126-5138.
- Awakairt, S. (2007). *Isolation of phycoerythrin and phycocyanin from red algae and cyanobacteria for using as potential marker dyes in immunofluorescence assay.* Thesis. Chiang May University. Thailand. 44-45.
- Becker, E. W. 2004. Microalgae in human and animal nutrition. In: Richmond A., editor. Handbook of Microalgae Culture. *Biotechnology and Applied Phycology.* Blackwell Science. Oxford.
- Bennett, A. and L. Bogorad. 1973. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol.* 58: 419–35.

- Bhat, V. B. and K. M. Madyastha. 2000. C-Phycocyanin: a potent peroxy radical scavenger *in vivo* and *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 275: 20–5.
- Bold, H. C. and M. J. Wynne. 1985. *Introduction to the algae, structure and reproduction*. Englewood Cliffs, Prentice-Hall. New Jersey.
- Braithwaite, A and F. J. Smith, 1995. *Chromatographic Methods*. Kluwer Academic Publishers. London.
- Brett, C. M. A. and A. M. O. Brett. 1994. Electrochemistry: principles, methods, and application. *Oxford University Press Inc*. New York. p. 13-214.
- Brown, S. B., J. A. Holroyd And D. I. Vernon. 1984. Biosynthesis of phycobiliprotein. Incorporation of biliverdin into phycocyanin of red alga *Cyanidium caldarium*. *J Biochem.* 219: 905-909.
- Bryant, D. A., G. Guglielmi., N. T. de Marsac., A. Castets and G. Cohen-Bazire. 1979. The structure of cyanobacterial phycobilisomes: a model. *Arch. Microbiol.* 123: 113–27.
- Campanella, L., E. Martini., G. Rita., M. Tomasseti. 2006. Antioxidant capacity of dry extracts checked by voltammetric method. *J Food Agric Environ* 4: 135-144.
- Cano, A., J. Hernandez-Ruiz., F. Garcia-Canovas., M. Acosta and M. B. Arnao. 1998. An end-point method for estimation of the total antioxidant activity in plant material. *Phytochem. Anal.* 9: 196–202.
- Cohen, Zvi. 2003. *Chemicals from microalgae*. Taylor and Francis. Israel.
- Dalimartha, S. dan M. Soedibyo. 1999. *Awet Muda dengan Tumbuhan Obat dan Diet Supleme*. Trubus Agriwidya. Jakarta.
- de Lima, A. A., E. M. Sussuchi., W. F. de Giovani. 2007. Electrochemical and antioxidant properties of anthocyanins and anthocyanidins. *Croat. Chem. Acta.* 80: 29-34.
- Desikachary, T. V. 1959. Cyanophyta. *Indian Council of Agriculture Research*. California. Vol.2.
- Enciso, P., F. M. Cabrerizo., J. S. Gancheff., P. A. Denis and M. F. Cerda. 2013. Phycocyanin as natural potential dye for its use in photovoltaic cells. *Journal of Applied Solution Chemistry and Modeling.* 2, 225-233.
- Eriksen, N. T. 2008. Production of phycocyanin- a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80: 1-14.

- Glazer, A. N. 1985. Light harvesting by phycobilisomes. *Annu Rev Biophys Chem.* 14 :47–77.
- Glazer, A. N. 1989. Light guides. Directional energy transfer in a photosynthetic antenna. *J. Biol. Chem. California.* 264: 1-4.
- Glazer, A. N. 1994. Phycobiliproteins- a family of valuable, widely used fluorophores. *J. Appl. Phycol.* 6: 105-112.
- Glazer, A. N. 1994. Phycocyanins : Structure and function. *Department of biological chemistry.*
- Gosser, David K. Jr. 1993. *Cyclic voltammetry simulation and analysis of reaction mechanism.* VCH Publisher. USA.
- Guillard, R. R. L.. 2005. Algal culturing technique. R. A. Andersen (ed). *Elsevier Academic Press.* London. Pp 117-132.
- Guiry, M. D. 2011. *Oscillatoria* Vaucher ex Gomont. *AlgaeBase.* 1892: 198.
- Harmita, A. P. T. 2006. *Analisa Fisikokimia.* UI-Press. Jakarta. 17: 144-152.
- Harvey, D. 2000. *Modern Analytical Chemistry.* McGraw-Hill. New York.
- Javanmardi, J., C. Stushnoff., E. Locke and J M. Vivanco. 2003. Antioxidant activity and total phenolic content of iranian ocimum accessions. *J Agric Food Chem.* 83: 547-550.
- Jespersen, L., L. D. Stromdahl., K. Olsen and L.H. Skibsted. 2005. Heat and light stability of three natural blue colorants for use in confectionery and beverages. *Eur. Food Res. Technol.* 220: 261-266.
- Ji, Li-Lian., G. Y. Cui and X. X. Zhao. 2011. Antioxidant activities of phycobiliproteins isolated from wild nostoc commune. *International Conference on Agricultural and Natural Resources Engineering Advances in Biomedical Engineering.* Vol.3-5.
- Jos, B., PE. Setyawan dan Y. Satria. 2011. Optimalisasi ekstraksi dan uji stabilitas *phycocyanin* dari mikroalga *Spirulina platensis*. *Jurnal Teknik.* Vol. 32, No.3.
- Kawaroe, M., T. Prartono., A. Sunuddin., D.W. Sari dan D. Augustine. 2010. *Mikroalga Potensi dan Pemanfaatannya Untuk Produksi Bio Bahan Bakar.* IPB Press. Bogor.
- Khopkar, S. M. 2002. *Konsep Dasar Kimia Analitik.* Saptorahardjo, penerjemah. UI Press. Jakarta. Terjemahan dari: *Basic Concept of Analytical Chemistry.*

- Kikuzaki, H. and N. Nakatani. 1993. Antioxidant effects of some ginger constituents. *Journal Food Sci.* 58: 1407-1410.
- Kilmartin, P. A., H. Zou., H. Waterhouse. 2001. A cyclic voltammetry method suitable to characterizing antioxidant properties of wine and wine phenolics. *J. Agric. Food Chem.* 49: 1957–1965.
- Korotkova, E. I., Y. A. Karbainov., A. V. Shevchuk. 2002. Study of antioxidant properties by voltammetry. *J. Electroanalytical Chem.* 518: 56–60.
- Korotkova, E. I., O. A. Avramchik., E. V. Plotnikov., A. N. Lukina., Y.A. Karbainov. 2005. Antioxidant and electrochemical properties of calcium and lithium ascorbates. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 37: 1149–1154.
- Kuddus, M., P. Singh., G. Thomas and Awdah Al-hazimi. 2013. Recent Developments in production of biotechnological applications of C-phycocyanin. *Hindawi Publishing corporation, Biomed Research International.* Volume 2003. 10 Pp.
- Kumar, S. 2011. Free radicals and antioxidants: human and food system. *Adv. in Appl. Sci. Res.* 2(1): 129-135.
- Linster, C. L. and Schaftingen. 2006. Review article vitamin C: biosynthesis, recycling and regulation in mammals. *The FEBS journal.* University Catholique de Louvaian. Belgium.
- Liu, Y., L. Xu., N. Cheng., L. Lin and C. Zhang. 2000. Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cells. *J. Appl. Phycol.* 12: 125-130.
- Madsen, H. L., B. R. Nielsen., B. R. Bertelsen., L. H. Skibsted. 1996. Screening of antioxidative activity of spices. *Food Chem.* 57: 331–337.
- Monk, P. M. S. 2001. *Fundamentals of Electroanalytical Chemistry.* John Wiley & Sons Ltd. Chichester. 156-166.
- Orozco, M. N., *et al.* 2010. Antioxidant-rich oral supplement attenuate the effects of oral iron on *in situ* oxidation susceptibility of human feces. *J. Nutr.* 140, 1105.
- Pandey, V. D., R. K. Gupta and S. K. Singh. 2007. Cyanobacteria as a source of pharmaceutical compounds. In: Gupta, R. K. and Pandey, V.D.(Eds.). *Advances in applied phycology.* Daya Publishing House. Delhi. Pp. 250-260.
- Pandey, V., D. Anita Pandey., V. Sharma. 2013. Biotechnological applications of cyanobacterial phycobiliproteins. *International Journal of current microbiology and applied sciences.* 9: Pp. 89-97.

- Parmar, A., N. K. Singh., A. Kaushal., S. Sonawala., D. Madamwar. 2011. Purification, characterization and comparison of phycoerythrins from three different marine cyanobacterial cultures. *Bioresour Technol.* 102: 1795-802.
- Patterson, G. M. L. 1996. Biotechnological applications of cyanobacteria. *JSIR.* 55: 669-684.
- Prakasih, A. 2001. Antioxidant activity. *Medallion Laboratories Analytical Progress.* 19 (2).
- Prior, R. L., X. Wu and K. Schaich. 2005. Standardized method for the determination of antioxidant capacity and phenolics in food and dietary supplements. *J Agric Food Chem.* 55: 2698 A-J.
- Reiger, P. H. 1994. *Electrochemistry.* 2nd edition. Chapman and Hall, Inc. USA.
- Romay, C., R. Gonzalez., N. Ledon., D. Remirez and V. Rimbau. 2003. C Phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Curr. Protein and Peptide Sci.* 4: 207-216.
- Sanchez-Moreno, C., J. A. Larrueri., F. Saura-Calixto. 1998. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. *J. Sci. Food Agric.* 76: 270–276.
- Sara, P., H. Iris., L. Diana., C. Cardenas., O. S. Nancy., A. Miguel., O. Romero and S. Parra. 2014. Extraction and purification of high-value metabolites from microalgae : essential lipids, astaxanthin and phycobiliproteins. *Microbial Biotechnology.* Mexico.
- Sastrohamidjojo, Hardjono. 2004. *Teknik Pemisahan Kromatografi* . UGM Press. Yogyakarta.
- Sekar, S. and M. Chandramohan. 2008. Fikobiliprotein as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization. *J. Appl. Phycol.* 20: 113-136.
- Singh, N. K., R. R. Sonani., R. P. Rastogi., D. Madamwar. 2015. Original article: the phycobilisomes: an early requisite for efficient photosynthesis incyanobacteria. *EXCLI Journal.* 14: 268-289.
- Skoog, D. A. and J. J. Leary. 1992. *Principle of Instrumental Analysis.* 4th Ed. Saunders College Publishing. London.
- Skoog, D.A., M. Donald., F. West and H. James. 1996. *Fundamentals of Analytical Chemistry.* Sevent Edt., Saunders College Publishing. Orlando.
- Skulberg, O. M. 2000. Microalgae as a source of bioactive molecules experience from cyanophyte research. *J. Appl. Phycol.* 12: 341-348.

- Sonani, R. R., R. P. Rastogi., D. Madamwar. 2015. Antioxidant potential of fikobiliprotein: role in anti-aging research. *Biochem Anal Biochem.* 4: 172.
- Soni, B., U. Trivedi., D. Madamwar. 2008. A novel method for single step hydrophobic interaction chromatography for the purification of phycocyanin from *Phormidium fragile* and its characterization for antioxidant property. *Bioresour Technol.* 99:188-94.
- Suhartono, E., H. Fachir dan B. Setiawan. 2007. *Kapita Sketsa Biokimia Stres Oksidatif Dasar dan Penyakit.* Universitas Lambung Mangkurat, Pustaka Benua. Banjarmasin.
- Tan, L. T. 2007. Bioactive natural products from marine cyanobacteria for drug discovery. *Phytochemistry.* 68: 954-979.
- Tomitani, A., A. H. Knoll., C. M. Cavanaugh and T. Ohno. 2006. The Evolutionary diversification of cyanobacteria: molecular-phylogenetic and paleontological perspectives. *PNAS.* 103 (14): 5442-5447.
- Van Den Hoek, C., D. G. Mann and H. M. Johns. 1995. *Algae: An Introduction to Phycology.* Cambridge University Press. Cambridge. pp. 623.
- Vonshak, S. A., C. Bigogno., I. Khozin-Goldberg., Boussiba and Z. Cohen. 2002 Lipid and fatty acid composition of the green alga *Parietochloris Incisa.* *Phytochemistry.* 60: 497-503.
- Wang, J. 2000. *Analytical Electrochemistry.* 2nd ed. Willey-VCH.
- Wang, J. 1994. *Analytical Electrochemistry.* VCH. New York.
- Wikanta, T., H.D. Januar dan M. Nursed. 2005. Uji Aktivitas Antioksidan, Toksisitas dan Sitotoksisitas Ekstrak Alga Merah *Rhododymenia palmate.* *Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia.* Vol. 11(4): 12-25.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas.* Kanisius . Yogyakarta.