

**PROFIL ANTIOKSIDAN BIOMASSA MIKROALGA *Chlorella pyrenoidosa*
DENGAN MEDIUM PERTUMBUHAN BERBASIS PRODUK
AGROKIMIA DALAM NEGERI**

SKRIPSI

AWANG WIDYATAMA

062121710



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

AWANG WIDYATAMA

062121710

**PROFIL ANTIOKSIDAN BIOMASSA MIKROALGA *Chlorella pyrenoidosa*
DENGAN MEDIUM PERTUMBUHAN BERBASIS PRODUK AGROKIMIA
DALAM NEGERI**



2024

**PROFIL ANTIOKSIDAN BIOMASSA MIKROALGA *Chlorella pyrenoidosa*
DENGAN MEDIUM PERTUMBUHAN BERBASIS PRODUK
AGROKIMIA DALAM NEGERI**

SKRIPSI

AWANG WIDYATAMA

062121710



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

**PROFIL ANTIOKSIDAN BIOMASSA MIKROALGA *Chlorella pyrenoidosa*
DENGAN MEDIUM PERTUMBUHAN BERBASIS PRODUK
AGROKIMIA DALAM NEGERI**

SKRIPSI

Skripsi Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat untuk
Memperoleh Gelar Sarjana pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Pakuan

AWANG WIDYATAMA

062121710



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PAKUAN
BOGOR
2024**

LEMBAR PENGESAHAN

Judul Skripsi : Profil Antioksidan Biomassa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dengan Medium Pertumbuhan Berbasis Produk Agrokimia Dalam Negeri

Nama : Awang Widyatama

NPM : 062121710

Skripsi Ini Telah Diperiksa dan Disetujui,
Bogor, Juni 2024

Pembimbing II



(Elva Stiawan, S.Pd., M.Si.)

Pembimbing I



(Dr. Ade Heri Mulyati, M.Si.)

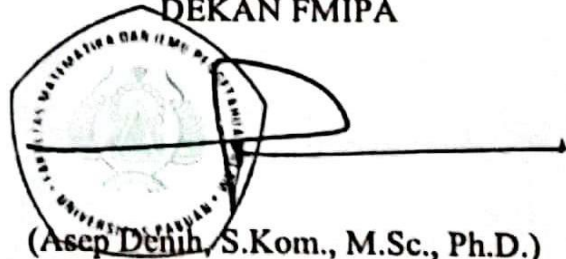
Mengetahui,

Ketua Program Studi Kimia



(Dr. Ade Heri Mulyati, M.Si.)

DEKAN FMIPA



(Asep Denih, S.Kom., M.Sc., Ph.D.)

RIWAYAT HIDUP



Awang Widyatama, lahir di Jakarta, 31 Agustus 1999, putra pertama dari dua bersaudara pasangan Bapak Atmadi, S.Sos., M.M. dan Ibu Tri Widayati, S.Pd. Mulai memasuki pendidikan formal pada tahun 2005 di SDIT Asy-Syifa Qolbu dan lulus pada tahun 2011, melanjutkan pendidikan di SMP Puspanegara pada tahun 2011 dan lulus pada tahun 2014, kemudian melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Cibinong pada tahun 2014 dan lulus pada tahun 2017. Pada tahun 2017, melanjutkan pendidikan vokasi di Program Studi D3 Analisis Kimia di Politeknik AKA Bogor dan lulus pada tahun 2020. Pada tahun 2021, melanjutkan pendidikan sarjana di Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pakuan dan lulus pada tahun 2024.

LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Awang Widyatama

NPM : 062121710

Judul Skripsi : **Profil Antioksidan Biomassa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dengan Medium Pertumbuhan Berbasis Produk Agrokimia Dalam Negeri**

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi ini merupakan hasil penelitian, pemikiran, dan pemaparan asli saya sendiri. Saya tidak mencantumkan tanpa pengakuan bahan-bahan yang telah dipublikasikan sebelumnya atau ditulis oleh orang lain atau sebagai bahan yang pernah diajukan untuk gelar atau ijazah pada Universitas Pakuan atau perguruan tinggi lainnya.

Apabila di kemudian hari terjadi penyimpangan dan ketidakbenaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Pakuan.

Demikian pernyataan ini saya buat.

Bogor, Juni 2024

Yang membuat pernyataan,



Awang Widyatama

**PERNYATAAN MENGENAI TUGAS AKHIR DAN SUMBER
INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA DAN PATEN**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Awang Widyatama

NPM : 062121710

Judul Skripsi : **Profil Antioksidan Biomassa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dengan Medium Pertumbuhan Berbasis Produk Agrokimia Dalam Negeri**

Dengan ini saya menyatakan bahwa tugas akhir di atas adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun ke perguruan tinggi manapun.

Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tugas akhir ini. Dengan ini saya melimpahkan hak cipta karya tulis saya kepada Universitas Pakuan.

Pembimbing II



Elva Stiawan, S. Pd., M. Si

Bogor, Juni 2024



Awang Widyatama

062121710

KATA PENGANTAR

Segala puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul “Profil Antioksidan Biomassa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dengan Medium Pertumbuhan Berbasis Produk Agrokimia Dalam Negeri”. Skripsi ini merupakan salah satu syarat mencapai gelar sarjana sains pada program studi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam di Universitas Pakuan.

Dalam penyusunan makalah ini, penulis dibantu dan dibimbing oleh berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Asep Denih, S. Kom., M.Sc., Ph.D selaku Dekan FMIPA Universitas Pakuan Bogor.
2. Ibu Dr. Ade Heri Mulyati, M.Si., selaku Ketua Program Studi Kimia Universitas Pakuan serta dosen pembimbing I, yang telah memberikan saran, arahan, serta bimbingannya selama proses penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.
3. Bapak Elva Stiawan, S. Pd., M. Si., selaku dosen pembimbing II dari Universitas Pertahanan, yang telah memberikan saran, arahan, serta bimbingannya selama proses penelitian dan penyusunan tugas akhir ini.
4. Seluruh dosen dan staff FMIPA Universitas Pakuan Bogor atas ilmu yang diberikan.
5. Ayah dan Ibu yang telah banyak memberikan dukungan dan bantuan.
6. Seluruh teman-teman di FMIPA Kimia 2021 dan pihak yang telah berjasa sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan makalah ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu.
7. Seluruh tim proyek dari Universitas Pertahanan atas bantuannya dalam penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kata sempurna, oleh karena itu penulis sangat mengharapkan adanya saran maupun kritik yang bersifat membangun demi kesempurnaan tugas selanjutnya. Akhir kata, penulis berharap

skripsi ini dapat memberikan kontribusi yang berarti bagi perkembangan ilmu pengetahuan alam dan memberikan manfaat bagi kita semua.

Bogor, Juni 2024

Penulis

Awang Widyatama. 062121710. “Profil Antioksidan Biomassa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dengan Medium Pertumbuhan Berbasis Produk Agrokimia Dalam Negeri”. Dibawah bimbingan Dr. Ade Heri Mulyati, M.Si dan Elva Stiawan, S.Pd, M.Si.

RINGKASAN

Wilayah perairan Indonesia yang luas memberikan lingkungan tropis yang ideal bagi kehidupan laut. Namun, penelitian tentang potensi sumber daya alam laut masih belum optimal. Salah satu aspek yang kurang diperhatikan adalah mikroalga yang memiliki potensi dalam berbagai aplikasi seperti pakan, bioenergi, dan bahan aktif industri. Kendala dalam pemanfaatan mikroalga termasuk kultivasi yang terhambat oleh ketersediaan bahan baku media pertumbuhan. Beberapa unsur di media pertumbuhan dapat disubstitusi menggunakan beberapa produk agrokimia berbasis domestik menjadi media pertumbuhan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. Banyak penelitian yang telah dilakukan tentang pemanfaatan potensi mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*, salah satunya adalah aktivitas antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengembangkan modifikasi media pertumbuhan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* berbasis produk agrokimia domestik yang memiliki potensi sebagai antioksidan.

Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap diantaranya pemrolehan starter mikroalga, kemudian pembuatan media pertumbuhan, pembuatan analisis pertumbuhan mikroalga melalui kurva pertumbuhan, pemanenan biomassa, identifikasi senyawa menggunakan UPLC-QToF-MS, dan masing-masing sampel diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa mikroalga dapat tumbuh pada media pertumbuhan modifikasi dari produk agrokimia domestik. Senyawa bioaktif yang mengandung potensi antioksidan berasal dari senyawa klorofil dan karotenoid. Media pertumbuhan NFI 1 mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* menghasilkan aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC_{50} sebesar $1339,70 \pm 159,09 \mu\text{g/mL}$ berkategori sangat lemah.

Kata kunci : Mikroalga, *Chlorella pyrenoidosa*, Media Pertumbuhan, Antioksidan

Awang Widayatama. 062121710. "The Antioxidant Profile of *Chlorella pyrenoidosa* Microalgae Biomass with Growth Medium Based on Domestic Agrochemical Products" Under the guidance of Dr. Ade Heri Mulyati, M.Si dan Elva Stiawan, S.Pd, M.Si.

SUMMARY

*The vast Indonesian marine waters offer a tropical environment that is ideal for marine life. However, research on the potential of marine natural resources is still not optimal. One aspect that has received insufficient attention is microalgae, which has potential in various applications such as feed, bioenergy, and active industrial ingredients. The main challenge in utilizing microalgae is cultivating it, which is often hindered by the availability of raw materials for growth media. However, some elements in the growth media can be substituted with domestically based agrochemical products to create a growth medium for *Chlorella pyrenoidosa* microalgae. Many studies have been conducted on harnessing the potential of *Chlorella pyrenoidosa* microalgae, one of which is its antioxidant activity. This research aims to develop a modification of *Chlorella pyrenoidosa* microalgae growth media based on domestic agrochemical products with potential as antioxidants.*

The research was conducted in several stages, which included acquiring microalgae starter culture, preparing growth media, analyzing microalgae growth through growth curve determination, harvesting biomass, identifying compounds using UPLC-QToF-MS, and testing the antioxidant activity of each sample using the DPPH method.

*The research findings suggest that microalgae can thrive on growth media modified from domestic agrochemical products. Bioactive compounds containing antioxidant potential originate from chlorophyll and carotenoids. The NFI 1 growth media for *Chlorella pyrenoidosa* microalgae yielded the best antioxidant activity, with an IC₅₀ value of 1339,70 ± 159,09 µg/mL, which is categorized as very weak.*

Keywords : *Microalgae, *Chlorella pyrenoidosa*, Growth Media, Antioxidant*

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
RINGKASAN	iii
SUMMARY	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN.....	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Hipotesis Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Mikroalga	4
2.2 Faktor-Faktor Pertumbuhan Mikroalga.....	9
2.3 Media Pertumbuhan	13
2.4 Fase Pertumbuhan Mikroalga	15
2.5 Biopigmen	17
2.6 Antioksidan	18
2.7 Teknik Pemanenan Mikroalga	19
2.8 Ultra Performance Liquid Chromatography – Quadrupole Time of Flight – Mass Spectrometry (UPLC-QToF-MS).....	20
2.9 Metode DPPH (1,1–Difenil-2-Pikrilhidrazil)	20
BAB III BAHAN DAN METODE	22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2 Alat dan Bahan	22
3.3 Metode Penelitian	22
3.3.1 Preparasi Media Pertumbuhan dan Sampel	22
3.3.1.1 Pengambilan Starter Mikroalga	22

3.3.1.2 Pembuatan Media Pertumbuhan	23
3.3.2 Analisis Mikroalga	23
3.3.2.1 Pertumbuhan Mikroalga.....	23
3.3.2.2 Pemanenan Biomassa	24
3.3.2.3 Identifikasi Senyawa Menggunakan UPLC-QToF-MS	24
3.3.2.4 Analisis Antioksidan	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	26
4.1 Pertumbuhan Mikroalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	26
4.2 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan UPLC-QToF-MS	29
4.3 Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	38
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1 Kesimpulan	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN	50

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan dari <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	8
Tabel 2. Komposisi Media F/2.....	14
Tabel 3. Komposisi Pupuk NPK dan Pupuk Meroke Fitoflex	14
Tabel 4. Kategori Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC ₅₀	18
Tabel 5. Rancangan Modifikasi Media F/2	23
Tabel 6. Hasil Biomassa Mikroalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	29
Tabel 7. Kandungan Senyawa Mikroalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i> pada Media Pertumbuhan NFI 2	31
Tabel 8. Kandungan Senyawa Mikroalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i> pada Media Kontrol F/2	33
Tabel 9. Nilai IC ₅₀ Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i>	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	8
Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Mikroalga	15
Gambar 3. Struktur Kimia DPPH	20
Gambar 4. Kurva Pertumbuhan <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	27
Gambar 5. Hasil Kromatogram UPLC-QToF-MS Mikroalga <i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i> pada Media Pertumbuhan NFI 2	30
Gambar 6. Hasil Kromatogram UPLC-QToF-MS Mikroalga <i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i> pada Media Pertumbuhan F/2 Kontrol	30

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian	50
Lampiran 2. Pembuatan Bahan	54
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian	55
Lampiran 4. Kurva Pertumbuhan Mikroalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57
Lampiran 5. Hasil Biomassa Mikroalga <i>Chlorella pyrenoidosa</i>	58
Lampiran 6. Daftar Hasil Identifikasi Senyawa Mikroalga <i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i>	59
Lampiran 7. Perhitungan Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i>	68

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Wilayah perairan Indonesia yang sangat luas melebihi luas daratannya memberikan lingkungan tropis yang ideal untuk berbagai bentuk kehidupan, terutama di ekosistem laut. Namun, penelitian dan eksplorasi mengenai potensi sumber daya alam laut di Indonesia dirasa masih belum diselenggarakan secara optimal. Salah satu potensi yang belum menerima perhatian yang memadai adalah mikroalga (Abdurrachman *et al*, 2013).

Mikroalga merupakan sumber potensial dalam berbagai aplikasi, termasuk sebagai sumber pakan, bahan baku bioenergi, dan bahan baku bioaktif dalam industri farmasi dan kosmetik (Priyadarshani dan Rath, 2012). Meskipun prospek mikroalga luas, terdapat sejumlah kendala yang dihadapi di dalam pemanfaatan mikroalga, salah satunya adalah kultivasi mikroalga yang terkendala oleh ketersediaan bahan baku media pertumbuhan. Pembuatan media pertumbuhan mikroalga menjadi fokus utama dalam mengatasi tantangan ini.

Media pertumbuhan memainkan peran kunci dalam pertumbuhan mikroalga di laboratorium atau industri. Salah satu media pertumbuhan yang umum dan efektif untuk kultivasi mikroalga adalah media Guillard F/2. Meskipun digunakan secara luas, media ini memiliki keterbatasan, terutama dalam formulasi dan harga yang relatif tinggi, terutama di skala besar (Endar *et al*, 2012). Oleh karena itu, pengembangan media pertumbuhan menjadi solusi alternatif untuk penyediaan bahan baku mandiri.

Dalam konteks penelitian ini, pengembangan media pertumbuhan F/2 dengan substitusi unsur-unsur dari produk pupuk buatan dalam negeri menjadi langkah strategis. Lebih lanjut, pemanfaatan pupuk sebagai komponen media pertumbuhan juga perlu dilakukan, terutama terkait dengan kondisi biomassa yang dihasilkan. Secara spesifik, kondisi biomassa yang dihasilkan dapat dikonfirmasi dengan profil antioksidan dari biomassa. Kajian mengenai aspek antioksidan ini menjadi menarik, terutama terkait dengan beberapa biomassa mikroalga yang sudah umum digunakan dalam konteks antioksidan di industri medis dan kosmetik.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat melindungi tubuh dari reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas pada konsentrasi rendah. Tubuh memerlukan antioksidan untuk membantu melindungi diri dari efek negatif radikal bebas (Rosahdi *et al*, 2015). Sebagai ilustrasi, biomassa dari *Spirulina sp.* atau mikroalga *Nanochloropsis sp.* dapat diaplikasikan pada produk-produk seperti masker wajah atau antioksidan/anti-penuaan dalam industri kosmetik.

Chlorella pyrenoidosa adalah jenis mikroalga yang termasuk dalam kelompok alga hijau. Alga hijau umumnya memiliki biopigmen yang digunakan dalam proses fotosintesis yaitu klorofil dan karotenoid (Silalahi, 2014). Penelitian Barriyah *et. al* (2013) menyatakan bahwa *Chlorella sp.* memiliki aktivitas antioksidan yang menunjukkan bahwa aktivitas antioksidannya berkategori kuat dengan nilai IC_{50} yaitu sebesar 18,610 $\mu\text{g/mL}$ pada media pertumbuhan Guillard F/2.

Berdasarkan pengembangan media pertumbuhan baru yang merujuk pada kandungan F/2 sebagai medium mikroalga populer di pasaran, tujuan utama dari modifikasi ini adalah menyediakan solusi alternatif penyediaan medium pertumbuhan mikroalga dari komoditas dalam negeri. Sejalan dengan itu, penting untuk memahami potensi mikroalga dalam menghasilkan komponen aktif dengan berbagai aktivitas positif. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat menjadi acuan untuk media kultur dan pemanfaatan mikroalga sebagai antioksidan.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu:

1. Mengembangkan media pertumbuhan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang berbasis produk agrokimia domestik.
2. Menganalisis kandungan senyawa pada mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang diidentifikasi menggunakan UPLC-QToF-MS.
3. Menentukan aktivitas senyawa yang memiliki antioksidan dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*.

1.3 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu:

1. Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dapat tumbuh dan menghasilkan biomassa di media pertumbuhan modifikasi F/2.
2. Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* memiliki senyawa bioaktif antioksidan yang berasal dari senyawa klorofil dan karotenoid.
3. Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi pada media pertumbuhan modifikasi F/2.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah mampu mengembangkan media pertumbuhan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang merujuk dari media pertumbuhan Guillard F/2 menggunakan pupuk NPK dan Fitoflex Meroke serta memberikan informasi mengenai aktivitas antioksidan dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Mikroalga

Mikroalga adalah mikroorganisme mikroskopis dan uniseluler yang telah hidup di bumi dalam jangka waktu yang panjang. Mikroalga secara umum dikategorikan menjadi dua, yaitu mikroalga air tawar dan mikroalga air laut. Mikroalga memiliki mekanisme fotosintesis mikroalga, yaitu proses di mana energi matahari digunakan untuk mengubah karbon dioksida dan air menjadi bahan organik, serta menghasilkan oksigen sebagai produk sampingan. Mereka juga merupakan sumber makanan bagi berbagai organisme akuatik, mulai dari plankton hingga hewan yang lebih besar. Karena strukturnya yang sederhana, mikroalga secara efisien mendapatkan air, karbon dioksida, dan nutrisi lainnya ketika berada dalam air sehingga mampu mengubah energi matahari menjadi sumber biomassa (Singh *et al*, 2020). Selain peran ekologisnya, mikroalga juga memiliki potensi dalam berbagai bidang, seperti pangan, energi, dan industri. Beberapa jenis mikroalga mengandung nutrisi penting seperti protein, omega-3, vitamin, dan mineral. Selain itu, beberapa mikroalga juga telah terbukti memiliki bioaktivitas seperti antimikroba, antijamur, dan antivirus (Priyadarshani dan Rath, 2012), serta aktivitas antioksidan dan antibakteri (Widowati *et al*, 2015). sehingga digunakan dalam produksi makanan atau suplemen (Negara *et al*, 2019).

Mikroalga memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan tanaman lainnya, seperti tidak membutuhkan lahan yang luas, kemampuan untuk dijadikan bahan bakar energi terbarukan sangat cepat, dan mampu memanfaatkan CO₂ dalam pertumbuhannya sehingga mengurangi emisi gas CO₂ (Zeng *et al*, 2021; Scott *et al*, 2010); Jorquera *et al*, 2010).

Mikroalga dibagi menjadi beberapa divisi, yaitu *Cyanobacteria*, *Chlorophyta*, *Bacillariophyceae*, *Chrysophyceae*, *Rhodophyta*, *Euglenophyta*, *Cryptophyta*, dan *Pyrrophyta*. *Cyanobacteria* atau alga hijau biru merupakan jenis alga yang paling primitif dan memiliki karakteristik bakteri serta alga. Organisme ini termasuk prokariota dan tidak memiliki struktur sel seperti nukleus dan kloroplas. Meskipun hanya memiliki klorofil a, namun memiliki beragam variasi

pigmen seperti fikobilin seperti karotenoid. Ragam pigmen ini menyebabkan warna cyanobacteria bervariasi, seperti yang dapat dilihat pada contoh-contoh seperti *Spirulina*, *Oscillatoria*, dan *Anabaena*.

Chlorophyta atau alga hijau adalah kelompok alga yang memiliki banyak karakteristik serupa dengan tumbuhan tingkat tinggi. Mereka merupakan organisme eukariotik dengan struktur sel khusus yang mencakup kloroplas dan nukleus, serta beberapa varietas memiliki flagela. Dinding sel mereka sebagian besar terdiri dari selulosa, walaupun beberapa di antaranya tidak memiliki dinding sel sama sekali. Alga hijau biasanya mengandung klorofil a dan klorofil b yang dominan dibandingkan dengan pigmen karotenoid. Secara umum, alga ini memiliki warna hijau seperti rumput. Ketika mereka tumbuh dalam keadaan padat dan terbatas cahaya, mereka akan memproduksi lebih banyak klorofil dan menghasilkan warna hijau yang lebih gelap. Contoh dari *Chlorophyta* meliputi *Dunaliella* (baik di air tawar maupun air laut), *Botryococcus*, dan *Chlorella* (baik di air tawar maupun air laut) yang mampu berkembangbiak dengan membentuk dua hingga delapan sel di dalam sel induk.

Bacillariophyceae atau Diatom adalah kelompok alga yang memiliki karakteristik unik di mana dinding selnya terbentuk dari silikon dioksida. Dinding sel ini memiliki banyak lubang sehingga menyerupai saringan yang sering digunakan secara komersial sebagai bagian dari beberapa peralatan filter. Diatom umumnya tidak memiliki flagela, kecuali pada beberapa spesies tertentu. Mereka hanya memiliki klorofil a dan c, serta beberapa karotenoid seperti fukoxantin yang memberikan warna coklat pada alga tersebut. Alga ini sering digunakan sebagai pakan dalam budidaya, contohnya *Chaetoceros* (di habitat air laut) yang sering dipakai sebagai pakan untuk rotifer, kerang, tiram, dan larva udang.

Chrysophyceae atau alga coklat emas sering dikaitkan dengan diatom, tetapi mereka memiliki sedikit dinding sel silika. Alga ini memiliki karakteristik umum yang sering ditemui pada sebagian besar alga. Beberapa anggota kelompok alga ini memiliki flagela dan bersifat motil. Semua alga ini memiliki kloroplas dan mengandung DNA dalam nukleusnya. Mereka hanya memiliki klorofil a dan c, serta beberapa karotenoid seperti fukoxantin yang memberi mereka warna coklat. Alga ini sering dibudidayakan dalam bentuk uniseluler sebagai sumber pakan

dalam usaha budidaya. Contoh dari *Chrysophyceae* mencakup *Isochrysis* (ditemukan di air laut), *Nannochloropsis* (ditemukan di air tawar dan air laut), dan *Ellipsoidon* (ditemukan di air tawar dan air laut).

Rhodophyta atau alga merah adalah kelompok mikroalga yang memiliki klorofil a serta berbagai pigmen lain seperti fikosianin (pigmen biru) dan fikoeritrin (pigmen merah), juga berbagai karotenoid. Pigmen fikoeritrin memberikan alga ini warna merah yang beragam. Selain itu, alga merah terkadang juga memiliki warna hijau kebiruan hingga ungu. Alga merah uniseluler umumnya tidak bersifat motil dan tidak memiliki flagela. Mereka bisa ditanam dalam lingkungan budidaya, seperti contohnya *Porphyridium* yang digunakan dalam produksi karbohidrat.

Beberapa ahli taksonomi mengklasifikasikan *Euglenophyta* sebagai bagian dari kelompok alga hijau, sementara yang lain menggolongkannya sebagai protozoa karena organisme ini memiliki sifat-sifat baik tanaman maupun hewan. *Euglenophyta* adalah organisme eukariotik yang memiliki struktur tubuh yang mirip dengan sebagian besar alga, tetapi juga memiliki kerongkongan yang memungkinkan mereka untuk menelan partikel. Mereka memiliki satu flagela panjang yang digunakan untuk berenang, sering kali dengan cara menarik diri mereka melalui air, dan beberapa di antaranya juga dapat bergerak secara amoeboid. Meskipun mereka tidak memiliki dinding sel, *Euglenophyta* memiliki *pellicle* yaitu lapisan luar yang keras terdiri dari protein yang memiliki fungsi serupa dengan dinding sel. *Euglenophyta* mengandung klorofil a dan b, beberapa karotenoid, dan biasanya berwarna hijau seperti rumput. *Euglena*, salah satu *Euglenophyta* yang umumnya ditemukan di perairan.

Cryptophyta adalah kelompok uniseluler yang memiliki karakteristik unik dan tidak memiliki kekerabatan dekat dengan kelompok alga lainnya. Mereka merupakan organisme eukariotik dan memiliki kerongkongan. Semua spesies dalam kelompok ini memiliki flagela, bersifat motil, dan memiliki satu atau dua kloroplas, serta mengandung klorofil a dan c, fikosianin, fikoeritrin, dan beberapa karotenoid yang memberi warna cokelat pada tubuh mereka. Contohnya adalah *Cryptomonas* (ditemukan di air tawar dan air laut) yang memiliki 1-2 kloroplas berwarna cokelat dan dapat melakukan fotosintesis atau bertahan hidup dengan menggunakan bakteri. Umumnya, *Cryptophyta* tidak digunakan sebagai pakan

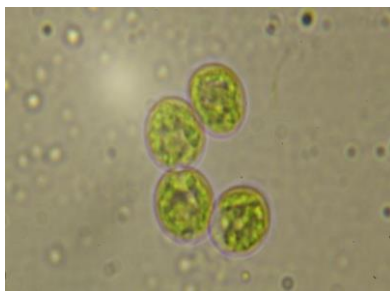
dalam lingkungan budidaya, tetapi di alam, populasi mereka merupakan makanan bagi rotifer, kerang, tiram, dan larva udang.

Phyrophyta adalah mikroalga yang termasuk dalam kelompok organisme uniseluler yang memiliki dua flagela dan sering ditemukan baik di air tawar maupun air laut. Mereka merupakan organisme eukariotik. Salah satu karakteristik khas dari kelompok ini adalah adanya dinding sel yang terbentuk dari lapisan selulosa, meskipun beberapa organisme dalam kelompok ini tidak memiliki struktur ini. *Dinoflagellata* memiliki dua flagela dan banyak di antaranya memiliki *trichocyst*, yaitu struktur protein yang dapat dikeluarkan dari permukaan sel untuk perlindungan diri dari predator. Beberapa spesies juga bersifat parasit pada ikan, menyebabkan masalah seperti penyakit '*velvet disease*'. Sebagian besar spesies ini tidak merupakan makanan alami ikan karena ukurannya terlalu besar untuk dikonsumsi.

2.1.1 Karakteristik *Chlorella pyrenoidosa*

Chlorella pyrenoidosa merupakan mikroalga yang termasuk dalam kelompok alga hijau (*chlorophyta*). Sel *Chlorella pyrenoidosa* memiliki bentuk bulat dengan diameter antara 2 hingga 8 μm . Reproduksi *Chlorella pyrenoidosa* terjadi melalui pembelahan sel dan pembentukan spora. Alga ini bersifat fotoautotrof, yaitu mampu menghasilkan makanannya sendiri melalui proses fotosintesis. Berikut adalah klasifikasi *Chlorella pyrenoidosa*.

Kingdom : *Plantae*
Divisi : *Chlorophyta*
Kelas : *Trebouxiophyceae*
Ordo : *Chlorellales*
Famili : *Chlorellaceae*
Genus : *Chlorella*
Spesies : *Chlorella pyrenoidosa*



Gambar 1. *Chlorella pyrenoidosa* (Sumber: Saputro *et al*, 2015)

Chlorella pyrenoidosa merupakan mikroalga yang potensial sebagai antioksidan. Berbagai penelitian telah mengkaji aktivitas antioksidan dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. Berikut adalah penelitian mengenai aktivitas antioksidan dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*.

Tabel 1. Aktivitas Antioksidan dari *Chlorella pyrenoidosa*

No	Judul dan Sumber	Metode	Hasil
1	Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga <i>Chlorella Sp.</i> Hasil Kultivasi Dalam Medium Ekstrak Tauge (Bariyyah, 2013)	Sampel: <i>Chlorella sp.</i> Analisis: Antioksidan Metode: DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	Ekstrak metanol dan ekstrak etil asetat <i>Chlorella sp</i> memiliki aktivitas antioksidan berturut-turut yaitu 18,610 ppm dan 27,320 ppm.
2	Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga <i>Chlorella vulgaris</i> yang Dikultivasi Berdasarkan Sumber Cahaya Yang Berbeda (Novianti, 2019)	Sampel: <i>Chlorella vulgaris</i> Analisis: Antioksidan Metode: DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	Ekstrak kasar <i>Chlorella vulgaris</i> dengan perlakuan sumber cahaya LED merah, hijau, dan biru memiliki aktivitas antioksidan berturut-turut yaitu 60,915 ppm; 47,188 ppm; dan 38,900 ppm.
3	Karakteristik dan Aktivitas Antioksidan Sabun Padat Transparan yang Diperkaya Dengan Ekstrak Kasar Karotenoid <i>Chlorella pyrenoidosa</i> (Agustini dan Winarni, 2017)	Sampel: <i>Chlorella sp.</i> Analisis: Antioksidan Metode: DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	Ekstrak kasar <i>Chlorella pyrenoidosa</i> memiliki aktivitas antioksidan sebesar 58,181 ppm.
4	Skrining Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga (Syawal, et. al, 2019)	Sampel: <i>Chlorella stigmatophora</i>	Ekstrak kasar <i>Chlorella stigmatophora</i> memiliki

		Analisis: Antioksidan Metode: DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	aktivitas antioksidan sebesar 1192,13 µg/ml.
5	Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga <i>Spirulina Sp.</i> , <i>Chlorella Sp.</i> , dan <i>Nannochloropsis Sp.</i> (Fithriani, et. al, 2015)	Sampel: <i>Chlorella sp.</i> Analisis: Antioksidan Metode: DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	Ekstrak kasar <i>Chlorella pyrenoidosa</i> memiliki aktivitas antioksidan sebesar 1388,85 ppm.
6	Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, dan N-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga <i>Chlorella Sp.</i> (Anggraeni, et. al, 2014)	Sampel: <i>Chlorella sp.</i> Analisis: Antioksidan Metode: DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	Nilai IC ₅₀ <i>Chlorella sp.</i> dari fraksi etil asetat, kloroform, petroleum eter, n-heksana, air, dan ekstrak metanol berturut-turut yaitu 332 ppm; 182 ppm; 27,26 ppm; 173,7 ppm; 1.411 ppm; dan 1.334 ppm.
7	Pertumbuhan dan Aktivitas Antioksidan Dari Mikroalga <i>Porphyridium cruentum</i> dan <i>Chlorella Sp.</i> (Rafaelina, 2015)	Sampel: <i>Chlorella sp.</i> Analisis: Antioksidan Metode: DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl)	Ekstrak metanol <i>Chlorella sp</i> memiliki aktivitas antioksidan yaitu 594,6 ppm.

2.2 Faktor-Faktor Pertumbuhan Mikroalga

Terdapat beberapa faktor yang dapat memengaruhi pertumbuhan mikroalga. Faktor-faktor tersebut penting menjadi perhatian karena dapat memberikan pengaruh pada pertumbuhan mikroalga. Faktor-faktor tersebut juga berpengaruh pada jumlah biomassa yang dihasilkan oleh mikroalga.

Faktor yang pertama adalah jenis mikroalga. Setiap jenis mikroalga memiliki strain yang unik, yang membedakannya dari jenis mikroalga lainnya, dan mampu bertahan hidup pada kondisi tertentu. Kondisi yang tepat sangat penting untuk pertumbuhan mikroalga, terutama ketika ada organisme lain yang dapat mengganggu pertumbuhan mikroalga. Teknik kultivasi mikroalga yang tepat terus

dikembangkan, khususnya untuk mengatasi masalah kontaminasi pada sel mikroalga yang dikembangkan (Gultom, 2018).

Kemudian faktor selanjutnya adalah cahaya. Mikroalga memerlukan sinar matahari untuk proses fotosintesis dan pertumbuhan. Tingkat intensitas cahaya sangat memengaruhi pertumbuhan mikroalga, tergantung pada durasi penyinaran dan panjang gelombang yang diterima. Fotosintesis akan meningkat seiring dengan peningkatan intensitas cahaya (Yustiningsih, 2019). Ketika tumbuh secara fototropik, mikroalga menggunakan sinar matahari dan CO₂ untuk melakukan fotosintesis (Gultom, 2018). Namun, beberapa jenis mikroalga dapat tumbuh secara heterotrofik, menggunakan karbon organik sebagai sumber energi. Kebutuhan akan cahaya juga bergantung pada kedalaman dan kerapatan air. Mikroalga menggunakan energi dari cahaya untuk menghasilkan karbon organik yang berperan dalam pembentukan biomassa. Cahaya matahari yang terlalu kuat dapat merusak bagian-bagian sistem fotosintesis dan mengurangi produktivitas mikroalga, sementara cahaya yang terlalu lemah tidak cukup untuk mendukung pertumbuhan mereka. Oleh karena itu, intensitas cahaya yang ideal berkisar antara 400 hingga 700 nm dan merupakan parameter penting dalam pertumbuhan mikroalga (Teo et al., 2014).

Faktor ketiga yang berperan adalah suhu. Suhu merupakan aspek kunci dalam proses pertumbuhan mikroalga. Perubahan suhu memiliki dampak signifikan pada aspek fisik, kimia, dan biologi. Variasi suhu juga memengaruhi kelarutan zat, mengubah laju metabolisme, dan respirasi mikroalga. Kebanyakan mikroalga memerlukan suhu dalam kisaran 15-40°C, dengan suhu optimum pertumbuhan terjadi pada 24-26°C. Suhu optimum ini mampu meningkatkan laju pertumbuhan mikroalga. Suhu di bawah 16°C dapat menghambat pertumbuhan mikroalga, sementara suhu di atas 35°C dapat menyebabkan kematian.

Faktor keempat adalah aerasi. Aerasi adalah proses penyediaan oksigen terlarut ke dalam lingkungan pertumbuhan mikroalga, khususnya dalam media akuatik seperti air. Ini dilakukan dengan menghembuskan atau mengaduk udara ke dalam air atau media yang mengandung mikroalga. Tujuan utama dari aerasi adalah untuk memastikan ketersediaan oksigen yang cukup bagi mikroalga. Aerasi cukup berpengaruh pada pertumbuhan mikroalga khususnya pada proses fotosintesis dan

respirasi. Ketersediaan oksigen yang cukup sangat penting bagi fotosintesis dan pertumbuhan mikroalga. Dalam proses fotosintesis, mikroalga menggunakan energi matahari untuk mengubah CO₂ menjadi bahan organik dan oksigen. Jika ketersediaan oksigen rendah, proses ini dapat terhambat, dan pertumbuhan mikroalga mungkin terbatas. Mikroalga juga melakukan respirasi, di mana mereka menggunakan oksigen untuk mengoksidasi senyawa organik dan menghasilkan energi dalam bentuk ATP.

Faktor salinitas mempengaruhi pertumbuhan mikroalga. Untuk pertumbuhan yang sehat, mikroalga membutuhkan kondisi salinitas yang optimal. Penambahan NaCl dan Na₂SO₄ ke dalam media kultur dapat meningkatkan salinitas, namun salinitas yang terlalu tinggi dapat menghambat pertumbuhan mikroalga. Persyaratan salinitas berbeda-beda antara spesies mikroalga. Sebagai contoh, mikroalga laut dapat mentolerir kondisi salinitas yang lebih tinggi daripada mikroalga air tawar. Hal ini menjadi penting karena menentukan jenis media kultur yang sesuai untuk mengembangkan mikroalga (Maity dan Mallick, 2022). Salinitas juga diatur untuk menghambat kontaminasi mikroorganisme lain seperti bakteri (Yang, *et al*, 2022).

Nutrien dibutuhkan oleh mikroalga untuk mendukung pertumbuhannya. Kebutuhan nutrisi mikroalga juga dipengaruhi oleh lingkungan atau habitat mikroalga. Secara umum nutrisi terbagi atas makronutrien dan mikronutrien. Komposisi makronutrien lebih banyak dibutuhkan daripada mikronutrien namun fungsi dari mikronutrien tidak bisa digantikan oleh unsur lain. Unsur-unsur makronutrien yang dibutuhkan oleh mikroalga adalah karbon (C), hidrogen (H), kalsium (Ca), magnesium (Mg), sulfur (S), nitrogen (N), fosfor (P), dan kalium (K).

Unsur karbon (C) berfungsi sebagai bahan dasar dalam proses fotosintesis. Glukosa dan karbohidrat yang dihasilkan fotosintesis berfungsi untuk pertumbuhan seluler mikroalga. Unsur hidrogen (H) berfungsi sebagai kontributor utama dalam penentuan tingkat keasaman (pH) lingkungan dalam sel mikroalga. Unsur Kalsium (Ca) merupakan komponen penting dalam pembentukan dinding sel, serta dalam transmisi sinyal seluler dan aktivitas enzimatik. Unsur Magnesium (Mg) adalah komponen pusat dalam molekul klorofil, yang merupakan pigmen penting dalam proses fotosintesis. Magnesium juga berperan dalam aktivasi enzim dan fungsi

kloroplas. Unsur Sulfur (S) merupakan bagian dari beberapa asam amino dan protein, serta berkontribusi pada struktur molekul biologis yang penting.

Unsur Nitrogen (N), Fosfor (P), dan Kalium (K) yang terkandung di dalam pupuk memiliki peran masing-masing, yaitu sebagai komponen penting dalam pembentukan protein, asam nukleat (DNA dan RNA), dan pigmen seperti klorofil. Mereka juga diperlukan dalam proses transfer energi, seperti ATP, serta penyimpanan energi dalam sel. Selain itu, unsur-unsur ini menjaga keseimbangan air dalam sel, serta berperan dalam mengatur tekanan osmotik dan aktivitas enzimatik

Selain unsur makronutrien, mikronutrien juga dibutuhkan dalam pertumbuhan mikroalga. Unsur mikronutrien yang dibutuhkan antara lain besi (Fe), tembaga (Cu), mangan (Mn), seng (Zn), kobalt (Co), molibdenum (Mo), boron (Bo), vanadium (Vn), dan silikon (Si).

Zat besi diperlukan oleh mikroalga untuk proses fotosintesis, di mana ia membantu dalam pembentukan molekul klorofil yang terlibat dalam menangkap energi matahari. Seng berperan dalam berbagai reaksi enzimatik di dalam mikroalga, termasuk proses pertumbuhan dan reproduksi. Mangan merupakan kofaktor untuk beberapa enzim yang terlibat dalam reaksi fotosintesis dan metabolisme karbohidrat. Kobalt diperlukan dalam sintesis vitamin B12 yang kritis bagi pertumbuhan dan perkembangan mikroalga. Tembaga dibutuhkan dalam reaksi oksidasi-reduksi dan berperan dalam biosintesis klorofil serta proses fotosintesis. Molibdenum diperlukan oleh mikroalga dalam reaksi enzimatik tertentu, seperti dalam pembentukan nitrogenase yang terlibat dalam fiksasi nitrogen. Vanadium dapat berperan sebagai kofaktor atau aktivator enzim dalam beberapa reaksi biokimia. Vanadium juga dapat mempengaruhi pertumbuhan, fisiologi, dan perkembangan mikroalga. Diatom memiliki dinding sel yang kuat dan transparan yang terdiri dari lapisan silika. Silikon dioksida adalah komponen utama dalam pembentukan dinding sel ini, yang dikenal sebagai frustule. Dinding sel yang keras dan kaku dari silika pada diatom berperan dalam melindungi sel dari predator.

Faktor yang terakhir adalah pH. pH dalam media pertumbuhan memiliki dampak signifikan terhadap berbagai aspek biokimia dan fisiologi sel pertumbuhan mikroalga. pH yang sesuai diperlukan untuk aktivitas enzim dalam sel mikroalga

serta untuk menjaga efisiensi fotosintesis. Selain itu, pH juga mempengaruhi kemampuan mikroalga dalam menyerap karbon dioksida (CO_2), suatu komponen vital untuk fotosintesis. Pentingnya pH tergambar dalam pengaruhnya terhadap penyerapan CO_2 oleh mikroalga, dimana pH rendah dapat menghambat proses ini dan mengurangi efisiensi fotosintesis. Selama pertumbuhannya, mikroalga secara bertahap meningkatkan pH media kultur menjadi basa, yang memungkinkan akumulasi ion OH^- dan penangkapan CO_2 dari atmosfer guna dikonversi menjadi biomassa. Selain itu, perubahan pH juga memiliki potensi untuk memengaruhi permeabilitas sel mikroalga dan sifat ion hidrogen terhidrasi dari senyawa anorganik (Isiramén *et al*, 2022).

2.3 Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan merupakan lingkungan buatan yang dirancang untuk memberikan nutrisi, cahaya, dan kondisi fisik-kimia yang optimal bagi pertumbuhan mikroalga. Nutrien merupakan faktor yang esensial dalam proses pertumbuhan mikroalga yang berpengaruh pada kuantitas biomassa yang dihasilkan (Marthia, 2020). Media pertumbuhan memiliki peran yang sangat penting dalam budidaya dan penelitian mikroalga. Media pertumbuhan adalah lingkungan di mana mikroalga hidup dan berkembang, dan kandungan serta komposisinya dapat mempengaruhi pertumbuhan, produktivitas, dan kualitas mikroalga.

Metode guillard F/2 merupakan salah satu media pertumbuhan yang umum digunakan dalam pertumbuhan mikroalga. Formula ini dirancang untuk menyediakan nutrisi yang lengkap dan seimbang bagi mikroalga agar dapat tumbuh dan berkembang secara optimal. Media F/2 mengandung dua unsur nutrisi yang memiliki peran krusial dalam perkembangan mikroalga, yaitu fosfat dan nitrat yang berasal dari senyawa NaH_2PO_4 dan NaNO_3 . Menurut penelitian oleh Petersen dan Risberg (2008), unsur fosfor (P) dan nitrogen (N) memiliki peranan yang sangat vital dalam lingkungan akuatik. Unsur nitrogen (N) memiliki peran penting dalam sintesis berbagai senyawa penting seperti protein, asam amino, enzim, asam nukleat, dan pigmen fotosintetik, sehingga memengaruhi struktur sel mikroalga (Gao, *et al*, 2019). Sementara itu, fosfor (P) merupakan salah satu unsur nutrisi utama yang mengatur pertumbuhan sel dan metabolisme, terlibat dalam berbagai proses seluler termasuk transfer energi, transduksi sinyal, biosintesis

makromolekul, fotosintesis, dan respirasi (Wu, *et al*, 2021). Komposisi setiap komponen media F/2 dapat dilihat pada Tabel 2.

Modifikasi pada unsur yang terkandung pada media guillard dapat dilakukan dengan beberapa tujuan seperti akses, biaya, dan optimalisasi pertumbuhan mikroalga. Unsur-unsur tersebut dapat ditemukan di beberapa produk pupuk seperti pupuk NPK dan pupuk meroke fitoflex. Tabel 3 menunjukkan komposisi kandungan pupuk NPK dan pupuk meroke fitoflex.

Tabel 2. Komposisi Media F/2 (Kang, 2011)

Nutrien	Jumlah (g)
Larutan A: Larutan Stok Nitrat dan Fosfat (1 L)	
NaNO ₃	84,15
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	6,00
FeCl ₃ .6H ₂ O	2,90
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	10,00
Larutan B: Larutan Stok Silikat (1 L)	
Na ₂ SiO ₃ .9H ₂ O	33,00
Larutan C: Larutan Stok <i>trace metal</i> (1 L)	
CuSO ₄ .5H ₂ O	1,96
ZnSO ₃ .7H ₂ O	4,40
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	1,26
MnCl ₂ .4H ₂ O	36,00
CoCl ₂ .6H ₂ O	2,0
Larutan D: Larutan Stok Vitamin (1 L)	
Vitamin B	0,4
Vitamin B12	0,002 mg
Biotin	0,1 mg

Tabel 3. Komposisi Pupuk NPK dan Pupuk Meroke Fitoflex

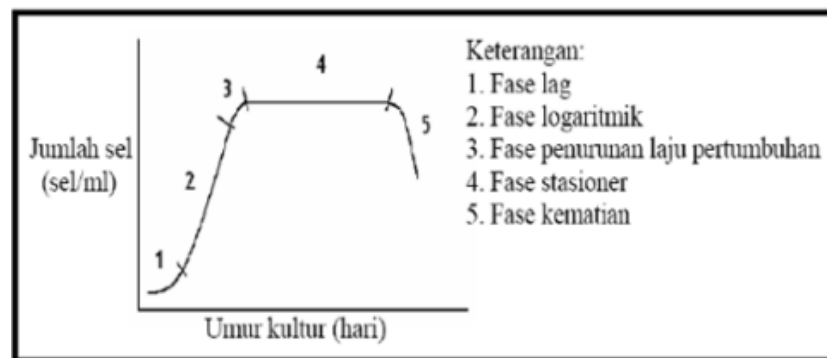
NPK	Meroke Fitoflex
N (12%)	Fe (2,5%)
P ₂ O ₅ (12%)	Mn (7%)
K ₂ O (17%)	Zn (5%)
MgO (2%)	Cu (2%)
Kadar air (maks 3%)	Boron (2%)
Borate, CuSO ₄ , dan ZnSO ₄ (0,07%)	Mo (0,1%)

Berdasarkan data komposisi kedua pupuk yang ditampilkan Tabel 3, kedua pupuk tersebut mengandung zat hara yang dibutuhkan pertumbuhan mikroalga sebagai media pertumbuhan. Oleh karena itu memungkinkan untuk memodifikasi

metode guillard F/2 dengan pupuk NPK dan meroke fitoflex dengan harapan dapat mengoptimalkan pertumbuhan pada mikroalga.

2.4 Fase Pertumbuhan Mikroalga

Pertumbuhan mikroalga terbagi menjadi beberapa fase. Fase pertumbuhan mikroalga adalah perkembangan siklus hidup mikroalga dari waktu ke waktu. Pertumbuhan mikroalga dalam medium ditunjukkan oleh bertambahnya jumlah sel. Terdapat 5 fase pertumbuhan mikroalga yaitu fase adaptasi (*lag phase*), fase logaritmik (*log phase*), fase penurunan pertumbuhan *declining growth phase*, fase stasioner (*stationary phase*), dan fase kematian (*death phase*) (Hadiyanto dan Azim, 2016).



Gambar 2. Kurva Pertumbuhan Mikroalga

Fase adaptasi dalam perkembangan mikroalga adalah periode di awal proses budidaya atau ketika mikroalga dipindahkan ke lingkungan yang berbeda, di mana mereka harus menyesuaikan diri dengan kondisi baru tersebut. Selama fase ini, mikroalga mengalami berbagai perubahan dalam struktur, metabolisme, dan respons seluler sebagai bagian dari transisi dari lingkungan sebelumnya ke lingkungan yang baru. Biasanya, fase adaptasi ini adalah periode awal yang cukup sensitif, yang dapat mengakibatkan penurunan pertumbuhan atau produktivitas mikroalga dalam jangka waktu tertentu. Namun, seiring berjalannya waktu, mikroalga umumnya akan berhasil beradaptasi dengan lingkungan baru dan memasuki fase pertumbuhan eksponensial di mana pertumbuhan mereka akan meningkat secara signifikan. Mengingat pentingnya fase adaptasi ini, perubahan kondisi lingkungan harus diatur dengan hati-hati dan secara bertahap untuk mengurangi stres dan dampak negatifnya pada mikroalga.

Fase logaritmik dalam pertumbuhan mikroalga adalah periode ketika populasi mikroalga tumbuh dengan cepat dan eksponensial. Ini adalah saat mikroalga membelah diri secara intensif, dan jumlah sel individu dalam populasi meningkat secara signifikan dari waktu ke waktu. Fase ini sering disebut sebagai fase pertumbuhan eksponensial atau fase pertumbuhan cepat. Fase logaritmik merupakan fase yang penting dalam budidaya mikroalga karena di sinilah produksi biomassa dan pertumbuhan mencapai tingkat tertinggi. Namun, penting untuk mengontrol dan memantau kondisi lingkungan dengan cermat selama fase ini agar tetap berjalan optimal dan untuk mencegah masalah seperti persaingan nutrisi yang ketat dan akumulasi produk sampingan yang bersifat toksik.

Fase penurunan pertumbuhan ditandai dengan perlambatan laju pertumbuhan mikroalga. Ini terjadi karena mikroalga telah mencapai tingkat maksimum biomassa, sehingga kebutuhan nutrisi menurun. Lebih lanjut, jumlah sel mikroalga yang tinggi dapat menghambat penyerapan cahaya ke dalam medium yang mempengaruhi aktivitas fotosintesis. Meskipun pembelahan sel masih terjadi selama periode ini, namun tidak seaktif pada fase logaritmik sehingga laju pertumbuhan menjadi lebih rendah. Faktor lingkungan lainnya seperti intensitas cahaya, pH, serta kadar CO₂ dan O₂ juga mulai membatasi pertumbuhan mikroalga.

Fase stasioner adalah salah satu tahap dalam siklus pertumbuhan mikroalga di mana populasi mikroalga berhenti berkembang dan jumlah sel mikroalga tetap stabil. Ini adalah periode di mana pertumbuhan dan kematian mikroalga seimbang, sehingga tidak ada peningkatan bersih dalam jumlah sel. Fase stasioner adalah bagian alami dari siklus hidup mikroalga dan mungkin merupakan tahap yang diperlukan untuk menjaga keseimbangan ekologis dalam populasi. Memahami faktor-faktor yang menyebabkan fase stasioner dan cara mengelola lingkungan budidaya untuk menghindari kemungkinan terjadinya fase ini dapat memiliki kepentingan besar dalam budidaya mikroalga untuk tujuan komersial atau penelitian.

Fase kematian yang juga sering disebut sebagai fase krisis atau fase penurunan, adalah bagian dari siklus pertumbuhan mikroalga di mana jumlah sel mikroalga mengalami penurunan drastis, yang mengakibatkan kematian sejumlah besar sel. Fase ini terjadi ketika kondisi lingkungan tidak lagi mendukung

kelangsungan hidup mikroalga atau ketika populasi telah mencapai kapasitas lingkungan yang bisa menopang. Fase kematian merupakan tahap terakhir dalam siklus pertumbuhan mikroalga.

2.5 Biopigmen

Biopigmen adalah pigmen alami yang berasal dari sumber-sumber alam seperti tumbuhan, hewan, dan mineral. Pigmen ini dihasilkan oleh organisme hidup, sehingga sumbernya dapat diperbaharui (sumber daya terbarukan). Selain dapat ditemukan dalam sayuran, buah-buahan, hewan, dan mineral, mikroalga juga merupakan sumber biopigmen yang berperan penting dalam proses fotosintesis. Selain berperan dalam fotosintesis, klorofil dan karotenoid juga memiliki potensi sebagai antioksidan. Biopigmen dapat dikelompokkan menjadi tiga kelas utama, yaitu klorofil, karotenoid, dan fikobilin (Barra, *et al*, 2014).

Klorofil adalah pigmen utama yang memberi alga hijau warna hijau. Klorofil yang dikenal juga sebagai porfirin magnesium memiliki warna hijau dan terdiri dari lima jenis yang berbeda: klorofil a, klorofil b, klorofil c, klorofil d, dan klorofil e. Pigmen klorofil terdapat di dalam kloroplas bersama dengan karotenoid dan xanthofil. Klorofil a cenderung berwarna hijau tua, sedangkan klorofil b lebih muda. Biasanya, perbandingan antara klorofil a dan klorofil b adalah 3:1. Klorofil c, d, dan e terdapat pada alga atau ganggang hijau (Pitojo, 2009). Klorofil a menyerap cahaya biru-violet dan merah, sedangkan klorofil b menyerap cahaya biru-jingga. Secara struktural, klorofil a mengandung gugus CH_3 , sementara klorofil b mengandung gugus $-\text{CHO}$ (Nio, 2011).

Karotenoid adalah jenis biopigmen yang memberikan warna jingga, kuning, atau merah, dan mereka terdapat di kloroplas bersama dengan klorofil. Karena keberadaannya bersama klorofil, karotenoid berperan sebagai pigmen pendukung dalam proses fotosintesis. Karotenoid terbagi menjadi dua jenis, yakni karoten yang mengandung karbon dan hidrogen, serta xantofil yang merupakan derivatif dari karoten. Terdapat enam jenis karoten, yaitu alfa, beta, gamma, sigma, likopen, dan beta zeakaroten. Dikarenakan sifat kepolaran dan kelarutannya, baik klorofil maupun karotenoid termasuk dalam kategori pigmen yang tidak polar dan harus diekstraksi menggunakan pelarut organik seperti metanol, etanol, atau aseton yang memiliki sifat kepolaran tertentu (Masojidek, *et. al*, 2004).

2.6 Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang dapat menangkap molekul radikal bebas yang mampu merusak sehingga mencegah reaksi oksidatif dalam tubuh (Adawiah et al., 2016). Tubuh sangat memerlukan antioksidan untuk melawan serta mencegah stres oksidatif (Werdhasari, 2014).

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Sifat reaktif dari radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan pada makromolekul pembentuk sel seperti protein, karbohidrat, lemak, dan asam nukleat. Serangan molekul radikal bebas terhadap molekul sekitarnya dapat memicu reaksi berantai yang menghasilkan radikal bebas tambahan. Konsekuensi dari reaktivitas radikal bebas ini meliputi berbagai penyakit, mulai dari masalah kardiovaskular hingga kanker (Rosahdi *et al*, 2015). Proses reaktifitas senyawa radikal bebas dapat mengakibatkan kerusakan pada tingkat seluler. Untuk mengatasi hal ini, antioksidan memiliki kemampuan untuk menyumbangkan elektron kepada molekul radikal bebas, sehingga membantu menstabilkan mereka dan menghentikan reaksi berantai yang merusak (Irianti *et al*, 2021).

Nilai efektivitas penanggulangan radikal bebas diukur menggunakan parameter IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). IC_{50} didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa uji yang mampu meredam 50% radikal bebas. Klasifikasi aktivitas antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} dapat disusun berdasarkan kategori tertentu, sebagaimana dijelaskan oleh Molyneux (2004).

Tabel. 4 Kategori Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Nilai IC_{50}

IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	Kategori
< 50	Sangat Kuat
50 – 100	Kuat
100 – 150	Sedang
150 – 200	Lemah

Ada dua jenis antioksidan, yaitu yang berasal dari alam dan yang disintesis secara buatan. Antioksidan alami banyak ditemukan dalam tanaman, sayuran, dan buah-buahan (Sayuti dan Yenrina, 2015), sementara antioksidan buatan mencakup butil hidroksilanisol (BHA), butil hidroksittoluen (BHT), propil gallat, dan etoksiquin (Sayuti dan Yenrina, 2015). Antioksidan alami telah lama diakui sebagai

pilihan yang menguntungkan untuk digunakan dalam makanan karena umumnya memiliki tingkat toksisitas yang rendah (Cahyadi, 2008). Mikroalga yang merupakan tumbuhan mikroskopis yang mengandung klorofil memiliki potensi sebagai sumber antioksidan selain digunakan dalam proses fotosintesis (Rosahdi *et al*, 2015).

2.7 Teknik Pemanenan Mikroalga

Secara umum, panen mikroalga merujuk pada serangkaian langkah untuk mengurangi kandungan air dari media pertumbuhan mikroalga sehingga meningkatkan kadar padatan dari kurang dari 1,0% menjadi biomassa dengan konsistensi hingga 20% padatan. Hal ini disesuaikan dengan kebutuhan untuk pengolahan lebih lanjut dari biomassa untuk berbagai tujuan. (Santoso, 2017). Cara untuk memanen mikroalga meliputi berbagai teknik seperti sentrifugasi, koagulasi, flokulasi, filtrasi, dan sedimentasi sentrifugal atau gravitasi. Ada dua tahap dalam proses pemanenan mikroalga yaitu pemanenan massal dan pengentalan. Pemanenan massal bertujuan untuk memisahkan mikroalga dari suspensi dan memperoleh massa padat sebesar 2-7% melalui flokulasi, flotasi buih, atau sedimentasi gravitasi (Fuad, *et. al*, 2018). Sementara itu, pengentalan bertujuan untuk memperkaya biomassa melalui filtrasi dan sentrifugasi, namun memerlukan lebih banyak energi daripada pemanenan massal (Ortiz *et al*, 2022). Teknik pemanenan yang dipilih bergantung pada karakteristik mikroalga, seperti kerapatan dan ukuran sel.

2.7.1 Sentrifugasi

Metode sentrifugasi adalah cara untuk memisahkan campuran menggunakan gaya sentrifugal dan umum digunakan dalam pemanenan mikroalga. Meskipun dapat menghasilkan hasil maksimum hingga 95% pada kondisi yang optimal, teknik ini membutuhkan energi yang intensif dan biaya modal dan operasional yang tinggi (Najjar dan Abu-Shamleh, 2020). Biaya pengeringan suspensi mikroalga menggunakan metode sentrifugasi dapat mencapai 20-30% dari total biaya produksi biofuel. Meskipun metode ini membutuhkan gaya gravitasi yang diakibatkan dari akselerasi atau percepatan (*g-force*) yang tinggi, namun tetap dapat digunakan dalam prosesnya. Ada tiga jenis sentrifugal pengendapan yang sering digunakan pada skala industri, yaitu tumpukan cakram, tipe nosel, dan

sentrifugal dekanter (Sharma, *et al*, 2014). Meskipun metode sentrifugasi efektif, namun metode ini memiliki keterbatasan biaya operasi dan pemeliharaan yang tinggi sehingga tidak cocok untuk aplikasi skala besar.

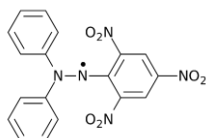
2.8 *Ultra Performance Liquid Chromatography – Quadrupole Time of Flight – Mass Spectrometry (UPLC-QToF-MS)*

UPLC-QToF-MS merupakan suatu metode analisis kimia yang menggabungkan kromatografi cair untuk pemisahan dengan spektrometri massa untuk melihat identifikasi perbedaan dalam pola senyawa utama pada beberapa ekstrak (Afriani dan Nurulita, 2020). Prinsip kerja UPLC-QToF-MS adalah pemisahan senyawa atau campuran senyawa berdasarkan sifat kepolarannya. Hasil dari pemisahan senyawa adalah senyawa murni yang dapat diidentifikasi menggunakan *Mass Spectrum* (Yuliana dan Arianti, 2020).

Keunggulan teknologi UPLC-QToF-MS terletak pada kemampuannya menghasilkan analisis yang khas dan spesifik dengan menggunakan spektrometer massa sebagai detektor. Metode ini memiliki aplikasi yang luas dan sistem yang praktis, karena UPLC-QToF-MS tidak terbatas pada molekul yang mudah menguap. Selain itu, teknologi ini mampu mengukur analit yang sangat polar serta memiliki kelebihan dalam persiapan sampel yang relatif sederhana tanpa memerlukan teknik derivatisasi. Metode pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu analisis yang singkat (Khotimah, 2016).

2.9 **Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)**

Senyawa DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) merupakan senyawa radikal bebas yang dapat stabil dalam metanol. Perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning menunjukkan adanya gugus pikril.



Gambar 3. Struktur Kimia DPPH

Metode uji DPPH adalah suatu teknik untuk mengukur aktivitas antioksidan dengan menggunakan kristal DPPH dan menunjukkan absorbansi maksimum dalam pelarut etanol atau metanol. Metode ini cocok digunakan untuk komponen yang bersifat polar. Penggunaan metode DPPH untuk menguji aktivitas antioksidan pada senyawa tertentu atau ekstrak tanaman dianggap sebagai pendekatan terbaik karena kemudahannya, kecepatannya, dan tingkat sensitivitasnya.

Senyawa DPPH pada panjang gelombang λ 517 nm menunjukkan penyerapan yang intens ketika elektronnya berpasangan akibat adanya penangkap radikal bebas, sehingga absorbansinya berkurang seiring dengan jumlah elektron yang diambil. Perubahan absorbansi digunakan untuk menguji kemampuan senyawa uji sebagai penangkap radikal bebas (Supomo *et al*, 2021).

Prinsip dasar dari metode DPPH melibatkan reaksi penangkapan atom hidrogen oleh DPPH dari senyawa antioksidan yang mengakibatkan reduksi DPPH menjadi senyawa difenil pikril hidrazil (DPPH-H) dan perubahan warna menjadi kuning. Perubahan ini dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan direpresentasikan sebagai grafik penurunan intensitas warna seiring dengan konsentrasi yang disebabkan oleh pengurangan ikatan rangkap terkonjugasi pada DPPH (Supomo *et al.*, 2021). Aktivitas antioksidan kemudian dapat dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\%inhibisi = \frac{A_{blanko} - A_{sampel}}{A_{blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

A_{blanko} = Absorbansi DPPH sebelum direaksikan dengan larutan sampel

A_{sampel} = Absorbansi DPPH setelah direaksikan dengan larutan sampel dan pembanding (Erlidawati dan Safrida, 2018).

BAB III

BAHAN DAN METODE

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Oktober 2023 sampai Januari 2024 di Laboratorium Prodi Kimia, FMIPA Militer, Universitas Pertahanan dan Laboratorium Kimia Universitas Pakuan.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah neraca analitik, erlenmeyer, gelas piala, labu takar, pipet mohr, gelas ukur, alat pengukur salinitas, botol wadah kaca 1 L, batang pengaduk, autoklaf, pipet tetes, mikropipet, aerator, botol vial, corong gelas, sentrifuge, spektrofotometer UV-vis, dan UPLC-QToF-MS.

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. Bahan kimia yang digunakan adalah aquades, metanol p.a, pupuk NPK, pupuk Merauke Fitoflex, garam kasar, $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, vitamin B1, vitamin B12, biotin, dan kristal DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*).

3.3 Metode Penelitian

Metode penelitian ini dibagi menjadi beberapa tahapan meliputi: pemrolean starter mikroalga, pembuatan media pertumbuhan, analisis pertumbuhan mikroalga melalui kurva pertumbuhan, pemanenan biomassa, identifikasi senyawa menggunakan UPLC-QToF-MS, dan masing-masing sampel diuji aktivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH. Diagram alir metode penelitian dapat dilihat pada Lampiran 1.

3.3.1 Persiapan Sampel dan Pembuatan Media Pertumbuhan

3.3.1.1 Pengambilan Starter Mikroalga

Starter mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dibeli dari Syarif Pet Care, yaitu pelaku usaha pembiakkan kultur mikroalga yang berlokasi di Bogor, Indonesia. Starter mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* terdapat sebanyak 250 mL yang

dimasukkan ke dalam botol dan diberi label. Gambar starter mikroalga dapat dilihat pada Lampiran 3.

3.3.1.2 Pembuatan Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan terdiri dari 4 larutan, yaitu larutan A (pupuk NPK), larutan B (silikat), larutan C (pupuk Meroke Fitoflex), dan larutan D (vitamin). Larutan yang sudah dibuat kemudian dilakukan formulasi dengan menambahkan atau mengurangi volume larutan A dan larutan C seperti dengan tabel berikut.

Tabel 5. Rancangan Modifikasi Media F/2

No	Komponen	Volume Komponen (mL)			
		Media NFI 1	Media NFI 2	Media NFI 3	Media Kontrol F/2
1	F/2 Guilard	0	0	0	1
2	Larutan A	0,5	1	2	0
3	Larutan B	1	1	1	0
4	Larutan C	0,5	1	2	0
5	Larutan D	1	1	1	0
6	Total air garam 28 ppt	1000	1000	1000	1000

Ket: NFI merupakan singkatan dari merk dan tipe dari produk-produk yang digunakan, yaitu N, F, dan I secara berturut-turut merupakan inisial dari pupuk NPK, pupuk Fitoflex, dan Vitamin IPI

Media yang telah dibuat disterilisasi menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C. Media didiamkan selama 12 jam. Setelah itu, mikroalga dikultivasi dengan cara memasukkan 30 mL starter mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* ke dalam media pertumbuhan.

3.3.2 Analisis Mikroalga

3.3.2.1 Pertumbuhan Mikroalga

Kurva pertumbuhan mikroalga ditentukan melalui pengukuran densitas optik (absorbansi) menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 450 nm setiap hari (Hernandi, dkk., 2019). Pengukuran dilakukan pada wadah erlenmeyer yang berbeda dari wadah media pertumbuhan, namun dengan formulasi dan perlakuan yang sama.

3.3.2.2 Pemanenan Biomassa

Pemanenan biomassa mikroalga dilakukan pada saat fase stasioner berdasarkan kurva pertumbuhan mikroalga. Biomassa dipanen menggunakan sentrifuge pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit (Christenson dan Sims, 2011). Endapan yang terbentuk ditimbang bobotnya dengan rumus:

$$W = W1 - W0$$

Keterangan :

W = Bobot biomassa (g)

W0 = Bobot botol vial (g)

W1 = Bobot botol vial + bobot biomassa (g)

3.3.2.3 Identifikasi Senyawa Menggunakan UPLC-QToF-MS

Biomassa mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dianalisis menggunakan UPLC-QToF-MS untuk mendapatkan data kualitatif. Dari hasil analisis data UPLC-QToF-MS, diperoleh kromatogram berupa alur tinggi puncak, dan diperoleh berat molekul senyawa yang terkandung dalam mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. Identifikasi senyawa pada mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* mengacu pada prosedur yang dilakukan oleh Hakim *et al* (2018).

Pengujian dimulai dengan menimbang masing-masing 10 mg sampel mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* media pertumbuhan NFI 2 dan media kontrol, kemudian dilarutkan ke 10 ml metanol dalam labu takar. Ekstrak metanol diambil menggunakan *microsyringe* sebanyak 5 μ l dan diinjeksikan ke dalam *injector* UPLC. Cairan sampel dikonversi menjadi tetesan melalui *needle* yang telah diisi dengan muatan ESI positif (+). Ion-ion yang dihasilkan oleh detektor dipisahkan oleh analisator QToF (*Quadrupole Time of Flight*). Eluen yang digunakan terdiri dari campuran (A) air: asam format (99,9:0,1) dan (B) asetonitril: asam format (99,9:0,1), dengan sistem gradien elusi dan kecepatan aliran eluen sebesar 0,2 mL/menit.

Pada kromatogram, senyawa polar akan muncul lebih awal, diikuti oleh senyawa dengan kepolaran lebih rendah. Pemisahan hasil dibaca oleh detektor QToF-MS, menghasilkan puncak kromatogram. Interpretasi puncak kromatogram dilakukan menggunakan aplikasi *Masslynx*.

3.3.2.4 Analisis Antioksidan

Pengujian diawali dengan menyiapkan larutan induk DPPH dengan konsentrasi 0,4 mM sebagai sumber radikal bebas yang akan bereaksi dengan larutan uji. Kemudian, 2 mL larutan DPPH 0,4 mM dimasukkan ke dalam tabung reaksi, diikuti dengan penambahan 2 mL metanol p. a. Tabung reaksi kemudian ditutup dan dihomogenkan. Setelah itu, absorbansi larutan awal DPPH diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi yang tercatat digunakan sebagai kontrol absorbansi.

Pengujian aktivitas antioksidan mikroalga dilakukan dengan menimbang 10 mg biomassa mikroalga dari berbagai modifikasi media pertumbuhan, kemudian dilarutkan dengan metanol p.a. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL dan ditambahkan metanol p.a hingga mencapai tanda batas, kemudian dihomogenkan. Seri konsentrasi bertingkat dibuat dari larutan induk mikroalga yang terbagi menjadi 4 konsentrasi. Setiap konsentrasi ditambahkan dengan 1 ml DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran untuk setiap sampel diulang dua kali (Badarinath et al, 2010). Aktivitas antioksidan diekspresikan dalam bentuk persentase inhibisi yang dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut ini:

$$\%Inhibisi = \frac{Abs\ kontrol - Abs\ sampel}{Abs\ kontrol} \times 100\%$$

Konsentrasi penghambatan (IC_{50}) dihitung menggunakan persamaan regresi linier yang diperoleh dari hubungan antara konsentrasi ekstrak dan persentase penghambatan. Persamaan regresi linier tersebut direpresentasikan dalam bentuk $y = bx + a$, dimana x mewakili konsentrasi hambat 50% (IC_{50}) dengan memasukkan nilai $y = 50$ (Badrinath et al., 2010).

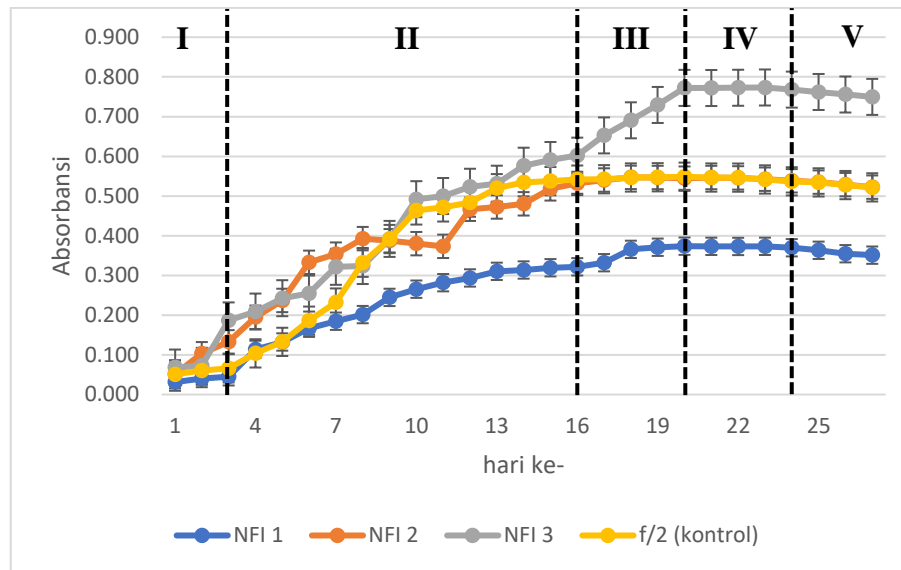
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

Dalam proses perbanyakkan biomassa mikroalga, tahap paling awal yang sangat krusial adalah pemerolehan laju pertumbuhan di mana penelitian dan pengembangan berfokus untuk memahami dan mengoptimalkan faktor-faktor yang memengaruhi laju pertumbuhan mikroalga guna mencapai produktivitas yang maksimal dalam skala perbanyakkan. Laju pertumbuhan mikroalga diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-vis yang didasarkan pada peningkatan absorbansi di dalam media pertumbuhan. Peningkatan absorbansi pada kurva pertumbuhan mencerminkan jumlah sel mikroalga yang berkembang dalam media tersebut. Semakin tinggi nilai absorbansi menunjukkan bahwa jumlah sel mikroalga yang tumbuh dalam media pertumbuhan semakin banyak. Sebaliknya, semakin rendah nilai absorbansi menunjukkan jumlah sel mikroalga yang berkembang dalam media pertumbuhan semakin sedikit (Vishnu & Sumathi, 2014). Kurva pertumbuhan digunakan sebagai petunjuk untuk menentukan waktu optimal untuk melakukan panen pada kultur mikroalga.

Kultivasi mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dilakukan dengan melakukan 3 modifikasi media pertumbuhan dengan menambahkan atau mengurangi jumlah kuantitas larutan A (pupuk NPK) dan larutan C (pupuk Meroke Fitoflex) untuk melihat adanya perbedaan kurva pertumbuhan, jumlah biomassa, dan aktivitas antioksidan. Media pertumbuhan NFI 1 adalah media pertumbuhan yang jumlah larutan A dan C-nya hanya ditambahkan 0,5 mL. Media pertumbuhan NFI 2 adalah media pertumbuhan yang jumlah larutan A dan C-nya normal yaitu 1 mL. Media pertumbuhan NFI 3 adalah media pertumbuhan yang jumlah larutan A dan C-nya ditambahkan 2 mL. Kurva pertumbuhan dari *Chlorella pyrenoidosa* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Kurva Pertumbuhan *Chlorella pyrenoidosa*

Ket: I: Fase Lag, II: Fase Logaritmik, III: Fase Penurunan Laju Pertumbuhan, IV: Fase Stasioner, V: Fase Kematian

Berdasarkan kultivasi mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* pada wadah erlenmeyer yang dilakukan selama 27 hari, dapat dilihat pada Gambar 4 diperoleh nilai absorbansi pada kurva pertumbuhan paling tinggi terjadi pada perlakuan media pertumbuhan NFI 3. Adapun nilai absorbansi terendah pada perlakuan media pertumbuhan NFI 1. Media pertumbuhan dengan perlakuan NFI 2 memiliki kurva pertumbuhan yang hampir mirip dengan kurva pertumbuhan F/2 sebagai kontrol. Hal ini disebabkan karena media pertumbuhan NFI 3 diformulasikan memiliki kandungan larutan A dan larutan C yang lebih banyak daripada kedua modifikasi media pertumbuhan. Pertumbuhan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dipengaruhi oleh kandungan unsur nitrogen dan fosfor dalam media pertumbuhan (Brahmantara *et al*, 2015). Nitrogen berperan dalam sintesis berbagai senyawa penting seperti protein, asam amino, enzim, asam nukleat, dan pigmen fotosintetik, sehingga memengaruhi struktur sel mikroalga (Gao, *et al*, 2019), sementara fosfor berfungsi untuk mengatur pertumbuhan sel dan metabolisme, terlibat dalam berbagai proses seluler termasuk transfer energi, transduksi sinyal, biosintesis makromolekul, fotosintesis, dan respirasi (Wu, *et al*, 2021). Selain kedua unsur tersebut, unsur-unsur lain juga esensial bagi kebutuhan nutrisi mikroalga karena mikroalga memerlukan sejumlah besar nutrisi baik makro- maupun mikronutrien (Sari *et al*,

2012). Baik keberadaan unsur mikro maupun makro untuk nutrisi mikrolaga telah diusahakan untuk tetap disediakan di dalam media. Dinata *et al.* (2017) mencatat bahwa keseimbangan optimal pertumbuhan mikroalga membutuhkan kadar nitrat dan fosfat yang tepat karena keduanya memiliki peran yang sangat vital dalam proses pertumbuhan mikroalga.

Kurva pertumbuhan menunjukkan bahwa mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* mengalami fase pertumbuhan mikroalga yang mirip dengan kurva pertumbuhan mikroalga pada umumnya. Fase lag umumnya terjadi pada hari ke 1-3. Pada fase ini mikroalga mulai beradaptasi dengan media pertumbuhan. Fase selanjutnya adalah fase logaritmik yang umumnya terjadi dari hari ke-4 hingga hari ke-16. Pada fase ini populasi mikroalga tumbuh secara cepat dan eksponensial. Fase logaritmik merupakan fase yang penting dalam budidaya mikroalga karena di sinilah produksi biomassa dan pertumbuhan mencapai tingkat tertinggi. Setelah fase logaritmik, terjadi fase dimana laju pertumbuhan mikroalga mulai turun. Fase ini terjadi pada hari ke-17 hingga 20. Hal ini terjadi karena mikroalga telah mencapai tingkat biomassa maksimum sehingga kebutuhan nutrisi berkurang. Selain itu, jumlah sel mikroalga yang tinggi dapat menghalangi penyerapan cahaya ke dalam media, yang pada gilirannya mempengaruhi aktivitas fotosintesis. Selama fase ini, pembelahan sel kemungkinan masih terjadi, tetapi tidak seaktif pada fase eksponensial, sehingga kecepatan pertumbuhan menjadi lebih rendah. Setelah itu, terjadi fase stasioner dimana populasi mikroalga berhenti berkembang dan jumlah sel mikroalga tetap stabil pada hari ke-21 sampai ke-24. Pada fase ini dilakukan panen mikroalga. Fase pertumbuhan mikroalga diakhiri oleh fase kematian yang terjadi pada hari ke-25 hingga 27 dimana populasi mikroalga berangsur-angsur mengalami penurunan yang cukup drastis. Dapat dikatakan masa pertumbuhan *Chlorella pyrenoidosa* tiap media pertumbuhan relatif mirip.

Hasil biomassa yang dipanen dapat dilihat pada Tabel 6. Hasil dari Tabel 6 menunjukkan bahwa modifikasi nutrisi dalam media kultivasi mikroalga baik dengan mengurangi maupun menambahkan jumlah tertentu akan berpengaruh terhadap biomassa mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*.

Tabel 6. Hasil Biomassa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

No	Modifikasi Media	Rata-rata Biomassa (gram)	Standar Deviasi (SD)	% RSD
1	NFI 1	1,9118	0,0607	3,17
2	NFI 2	3,5321	0,1900	5,38
3	NFI 3	5,3778	0,1901	3,53
4	F/2 (kontrol)	3,2434	0,2213	6,82

Penambahan nutrisi pada media pertumbuhan berbanding lurus dengan jumlah biomassa yang dihasilkan. Semakin banyak nutrisi yang ditambahkan ke dalam media pertumbuhan, maka semakin banyak biomassa yang dihasilkan. Begitu pun sebaliknya, semakin sedikit nutrisi yang ditambahkan ke dalam media pertumbuhan, maka akan semakin sedikit biomassa yang dihasilkan. Modifikasi media pertumbuhan NFI 3 menghasilkan biomassa terbanyak, sedangkan media pertumbuhan NFI 1 menghasilkan biomassa paling sedikit. Media pertumbuhan NFI 2 menghasilkan biomassa yang hampir sama dengan media kontrol F/2.

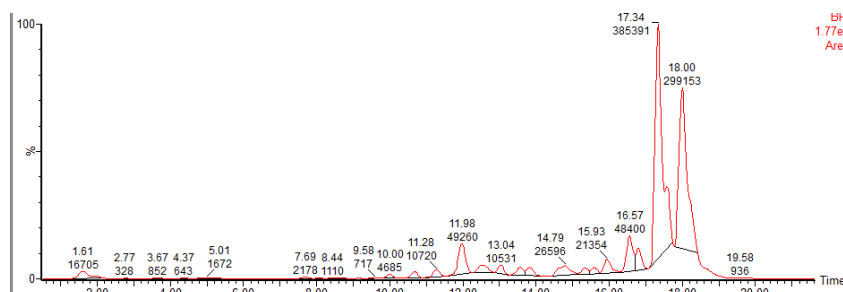
4.2 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan UPLC-QToF-MS

Metode analisis *Ultra Performance Liquid Chromatography - Quadrupole Time of Flight Mass Spectrometry* (UPLC-QToF-MS) digunakan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. UPLC-QToF-MS adalah kombinasi antara kromatografi cair dan spektrometri massa, di mana UPLC berperan dalam pemisahan senyawa berdasarkan kepolarannya dan detektor spektrometer massa mendeteksi ion bermuatan untuk menghasilkan senyawa murni dengan bobot molekul yang diketahui (LPPT UGM, 2017). Kombinasi ini meningkatkan efektivitas dan efisiensi analisis senyawa.

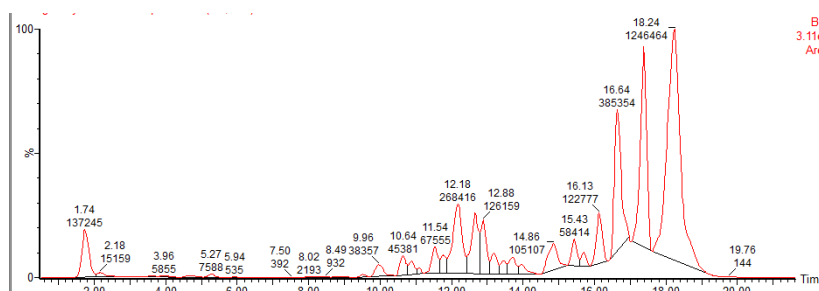
Dalam penelitian ini, sampel mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang dibiakkan pada media NFI 2 dan media kontrol untuk diuji kandungan senyawanya menggunakan UPLC-QToF-MS. Media NFI 2 dipilih karena memiliki komposisi yang mirip dengan media F/2 kontrol, sehingga memungkinkan perbandingan yang lebih tepat dalam analisis kandungan senyawa. Analisa dilakukan dengan detektor MS menggunakan sumber ion ESI (+) dan analisator MS berupa Q-ToF. Pemisahan

senyawa terjadi pada kolom oktadesil silika (C18) dengan campuran air: asam format (99,9:0,1) dan asetonitril: asam format (99,9:0,1) sebagai fase diam dan fase gerak dalam sistem elusi gradien. Kromatogram menunjukkan elusi senyawa polar diikuti oleh senyawa yang non polar. Kromatogram senyawa yang terkandung dalam mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6.

Hasil pemisahan yang terjadi pada kromatogram diinterpretasi menggunakan aplikasi *Masslynx 4.1*. Kromatogram yang terbentuk menghasilkan spektrum massa yang menggambarkan rasio massa terhadap muatan (m/z) serta kelimpahan relatif massa dari setiap puncak kromatogram. Rumus molekul dapat diprediksi berdasarkan interpretasi nilai rasio massa terhadap muatan (m/z) dengan memanfaatkan database terintegrasi pada situs seperti *ChemSpider*, *MassBank*, *Human Metabolome Database*, dan *PubChem*. Saat melakukan interpretasi, prediksi rumus molekul yang muncul dalam data dikurangi 1 atom H karena penambahan 1 atom H terjadi selama proses pemisahan melalui penembakan ion ESI (+) (Hakim, 2018). Tabel 7 menampilkan senyawa yang terkandung dalam mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*.

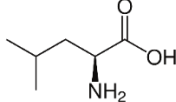
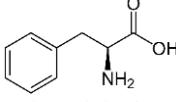
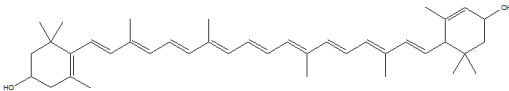
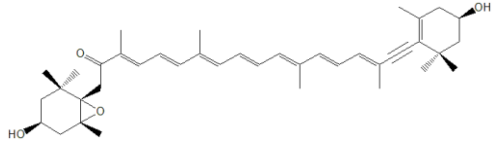
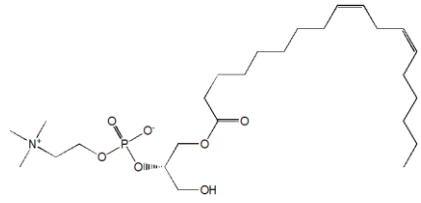


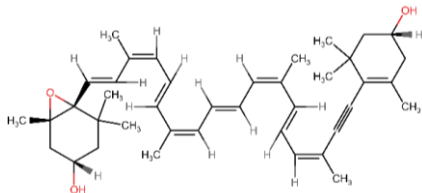
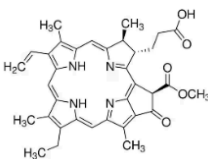
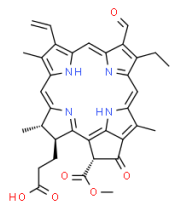
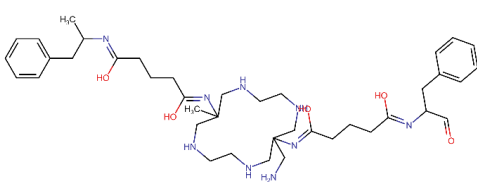
Gambar 5. Hasil Kromatogram UPLC-QToF-MS Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* pada media pertumbuhan NFI 2

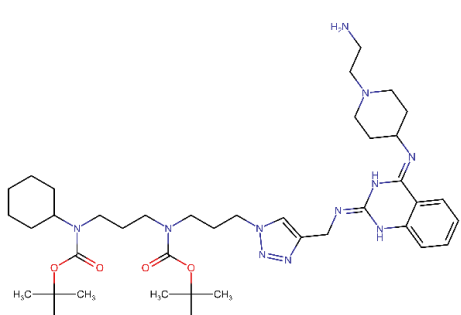
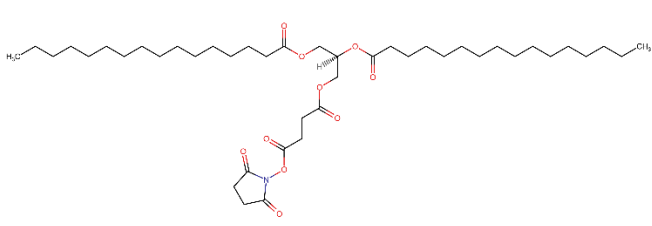


Gambar 6. Hasil Kromatogram UPLC-QToF-MS Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* pada media pertumbuhan F/2 kontrol

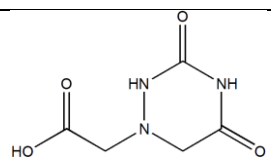
Tabel 7. Kandungan Senyawa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* pada media pertumbuhan NFI 2

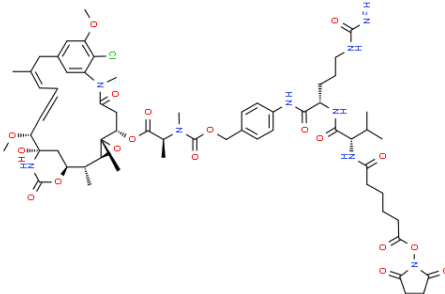
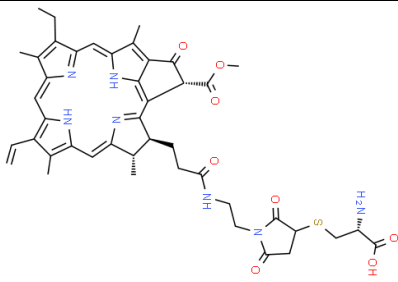
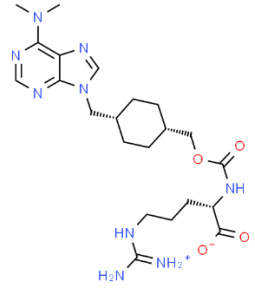
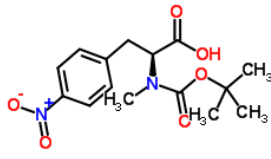
No	Waktu Retensi (min.)	[M+H] ⁺ (m/z)	%Luas Area	Senyawa
1	2,77	132,1	0,03	 <p>Leusin C₆H₁₃NO₂ Asam Amino (Pantami, 2020)</p>
2	3,67	166,1	0,09	 <p>Phenylalanine C₉H₉N Asam Amino (Pantami, 2020)</p>
3	8,67	569,3	0,08	 <p>Lutein C₄₀H₅₆O₂ Karotenoid (Fernandez, 2017)</p>
4	11,98	599,4	5,06	 <p>Halocynthiaxanthin C₄₀H₅₄O₄ Karotenoid (Chemspider)</p>
5	12,57	520,3	1,58	 <p>1-[9Z,12Z-octadecadienyl]-sn-glycero-3-phosphocholine C₂₁H₃₇N Asam Lemak (Pantami, 2020)</p>

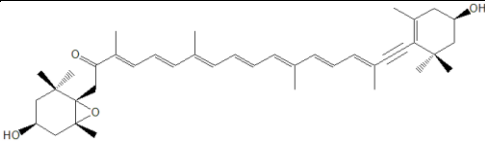
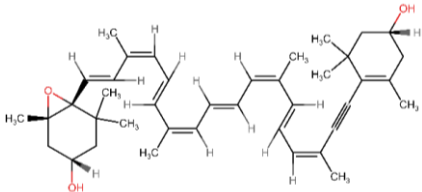
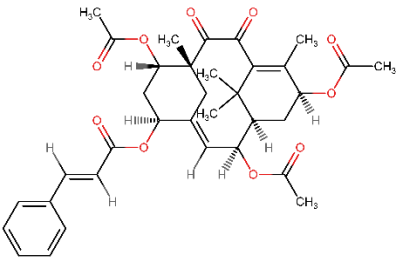
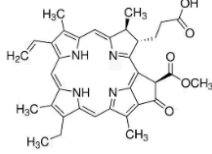
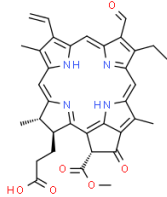
No	Waktu Retensi (min.)	[M+H] ⁺ (m/z)	%Luas Area	Senyawa
6	13,56	583,4	1,21	 <p>Diadinoxanthin C₄₀H₅₄O₃ Karotenoid (Chemspider)</p>
7	15,60	593,2	0,84	 <p>Pheophorbide A C₃₅H₃₆N₄O₅ Klorofil (Fu, 2013)</p>
8	16,57	607,3	4,97	 <p>Pheophorbide B C₃₅H₄₂O₉ Klorofil Fu, 2013</p>
9	16,79	750,5	2,75	 <p>N'-[13-(aminomethyl)-6-methyl-13-[[5-oxo-5-[(1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino]pentanoyl]amino]-1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl]-N-(1-phenylpropan-2-yl)pentanediamide C₄₀H₆₃N₉O₅ (Pubchem)</p>

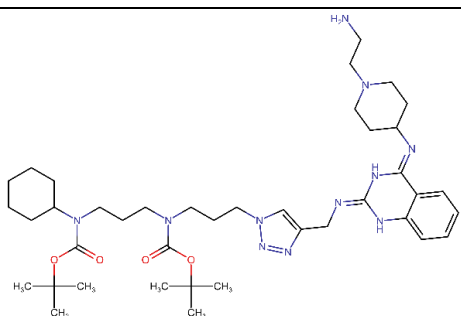
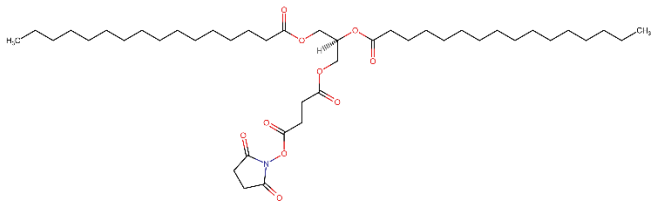
No	Waktu Retensi (min.)	[M+H] ⁺ (m/z)	%Luas Area	Senyawa
10	17,34	764,5	39,55	 <p>tert-butyl N-[3-[4-[[[4-[[1-(2-aminoethyl)piperidin-4-yl]amino]quinazolin-2-yl]amino]methyl]triazol-1-yl]propyl]-N-[3-[cyclohexyl-[(2-methylpropan-2-yl)oxycarbonyl]amino]propyl]carbamate C₄₀H₆₅N₁₁O₄ (Pubchem)</p>
11	18,00	766,5	30,70	 <p>1-O-[(2R)-2,3-di(hexadecanoyloxy)propyl] 4-O-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl) butanedioate C₄₃H₇₅NO₁₀ Asam Lemak (Pubchem)</p>

Tabel 8. Kandungan Senyawa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* pada media kontrol F/2

No	Waktu Retensi (min.)	[M+H] ⁺ (m/z)	%Luas Area	Senyawa
1	1,74	365,1	3,79	 <p>2-(3,5-dioxo-1,2,4-triazinan-1-yl)acetic acid C₁₀H₁₆N₆O₉ (Pubchem)</p>

No	Waktu Retensi (min.)	[M+H] ⁺ (m/z)	%Luas Area	Senyawa
2	9,96	838,3	1,06	 <p>N-[6-(6-Carbamoyl-7-methoxy-1-((2S)-5-oxo-2-pyrrolidinyl)methoxy)-4-isoquinolinyl]-5-hexynoyl]-3-methyl-L-valyl-(4R)-4-hydroxy-N-[4-(4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)benzyl]-L-prolinamide C₄₄H₅₁N₇O₈S (Chemspider)</p>
3	10,64	836,3	1,25	 <p>S-{1-[2-((3-((3S,4S,21R)-14-Ethyl-21-(methoxycarbonyl)-4,8,13,18-tetramethyl-20-oxo-9-vinyl-3-phorbiny])propanoyl)amino)ethyl]-2,5-dioxo-3-pyrrolidinyl}-L-cysteine C₄₄H₄₉N₇O₈S (Chemspider)</p>
4	10,88	490,3	0,85	 <p>(2S)-5-[[Ammonio(imino)methyl]amino]-2-(((cis-4-[[6-(dimethylamino)-9H-purin-9-yl]methyl]cyclohexyl)methoxy]carbonyl)amino)pentanoate C₂₂H₃₅N₉O₄ (Chemspider)</p>
5	11,54	492,3	1,87	 <p>N-[[2-(2-Methyl-2-propanyloxy)carbonyl]-4-nitro-L-phenylalanine]-N-cyclohexylcyclohexanamine C₂₆H₄₁N₃O₆ (Chemspider)</p>

No	Waktu Retensi (min.)	[M+H] ⁺ (m/z)	%Luas Area	Senyawa
6	12,18	599,4	7,41	 <p>Halocynthiaxanthin C₄₀H₅₄O₄ Karotenoid (Chempider)</p>
7	14,86	583,4	2,90	 <p>Diadinoxanthin C₄₀H₅₄O₃ Karotenoid (Chempider)</p>
8	15,43	621,3	1,61	 <p>Dantaxusin A C₃₅H₄₀O₁₀ (Chempider)</p>
9	15,69	593,3	0,79	 <p>Pheophorbide A C₃₅H₃₆N₄O₅ Klorofil (Fu, 2013)</p>
10	16,64	607,3	10,64	 <p>Pheophorbide B C₃₅H₄₂O₉ Klorofil Fu, 2013</p>

No	Waktu Retensi (min.)	[M+H] ⁺ (m/z)	%Luas Area	Senyawa
11	17,38	764,5	14,25	 <p>tert-butyl N-[3-[4-[[[4-[[1-(2-aminoethyl)piperidin-4-yl]amino]quinazolin-2-yl]amino]methyl]triazol-1-yl]propyl]-N-[3-[cyclohexyl-[(2-methylpropan-2-yl)oxycarbonyl]amino]propyl]carbamate C₄₀H₆₅N₁₁O₄ (Pubchem)</p>
12	18,24	766,5	34,42	 <p>1-O-[(2R)-2,3-di(hexadecanoyloxy)propyl] 4-O-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl) butanedioate C₄₃H₇₅NO₁₀ Asam Lemak (Pubchem)</p>

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa dalam mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*, terdeteksi sebanyak 27 puncak kromatogram pada media NFI 2 dan 37 puncak kromatogram pada media kontrol F/2. Media NFI 2 memiliki kandungan senyawa yang teridentifikasi lebih sedikit daripada media media kontrol F/2. Hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu faktor utama adalah ketersediaan nutrisi yang diabsorpsi dari media pertumbuhan (Trikuti, et. al, 2016). Seperti yang dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3, ada beberapa perbedaan unsur makronutrien dan mikronutrien pada media F/2 Guillard yang tidak tersubstitusi pada media NFI 2 seperti Na, Co, EDTA, dan Cl, atau beberapa unsur pada media NFI 2 memiliki kadar yang tidak sama dengan media F/2 Guillard sehingga mempengaruhi interaksi kimia dalam media dan mempengaruhi metabolisme mikroalga. Perubahan ini dapat menghasilkan produksi senyawa yang berbeda atau mengubah konsentrasi senyawa tertentu.

Setelah dilakukan pencarian pada basis data *ChemSpider* (chemspider.com), *MassBank* (massbank.eu dan massbank.jp), dan *PubChem* (pubchem.ncbi), teridentifikasi hanya 5 senyawa yang merupakan biopigmen, yaitu karotenoid dan klorofil. Sementara itu, senyawa lainnya yang teridentifikasi termasuk metabolit primer seperti enzim, asam amino, protein, karbohidrat, dan asam lemak (Kawaroe, 2008), serta senyawa yang belum dikenal namanya karena tidak terdaftar dalam basis data. Seluruh senyawa yang teridentifikasi dapat dilihat pada Lampiran 6. Senyawa yang teridentifikasi paling banyak terutama berasal dari beberapa senyawa kompleks, protein, dan asam lemak. Temuan ini menunjukkan bahwa kandungan biopigmen dalam mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* relatif rendah dibandingkan keberadaan senyawa yang tidak terkategori sebagai biopigmen. Implikasinya adalah potensi antioksidan dari mikroalga ini mungkin memiliki nilai yang terbatas.

Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* memiliki kandungan biopigmen yang terdeteksi sebagai karotenoid dan klorofil. Karotenoid adalah pigmen terpenoid yang menghasilkan rentang warna mulai dari kuning hingga oranye-merah. Organisme fotosintetik seperti mikroalga memproduksi karotenoid. Karotenoid terbagi menjadi dua kategori utama, yaitu xantofil (karotenoid yang mengandung atom oksigen) dan karotena (karotenoid yang terdiri dari hidrokarbon murni tanpa atom oksigen) (Agustini & Winarni, 2017). Struktur kimia karotenoid sangat bervariasi, termasuk di dalamnya β -carotene, α -carotene, likopen, lutein, zeaxanthin, β -cryptoxanthin, α -cryptoxanthin, γ -carotene, neurosporene, ζ -carotene, phytofluene, dan phytoene (Fiedor dan Burda, 2014). Fungsi biologis karotenoid meliputi aktivitas provitamin A, sifat antioksidan, kemampuan imunomodulasi, dan efek kemopreventif terhadap karsinogenesis (Faure *et al*, 1999). Pada penelitian ini jenis karotenoid yang teridentifikasi adalah Halocynthiaxanthin dan Diadinoxanthin yang termasuk dalam golongan β -carotene.

Klorofil dikenal sebagai porfirin magnesium memiliki empat jenis klorofil yang ditemukan pada alga laut. Yang pertama adalah klorofil a yang menyerap sebagian besar energi dari panjang gelombang cahaya biru ungu dan oranye-merah (Holdt dan Kraan, 2011). Klorofil a adalah molekul penting untuk fotosintesis

melalui penerusan elektron berenergi ke molekul, yang akan mensintesis gula. Klorofil b membantu fotosintesis dengan menyerap energi cahaya. Ia lebih larut dibandingkan klorofil a dalam pelarut polar, karena gugus karbonilnya. Klorofil c merupakan pigmen aksesori yang fungsinya mirip dengan klorofil b untuk memperluas jumlah panjang gelombang cahaya yang dapat diserap untuk fotosintesis. Klorofil d pertama kali dideskripsikan pada tahun 1943 pada cyanobacteria yang menyerap cahaya merah jauh, pada panjang gelombang 710 nm, karena adaptasinya terhadap perairan dalam, di mana tidak banyak cahaya tampak untuk fotosintesis (Larkum, 2005).

Pheophorbide A adalah produk hasil degradasi dan penghilangan unsur magnesium dari klorofil a yang terjadi di alga dan tumbuhan tingkat tinggi, sedangkan Pheophorbide B adalah produk hasil degradasi dan penghilangan unsur magnesium dari klorofil b. Proses transformasi katabolik ini dipandu oleh enzim klorofilase dan Mg-dekatalase. Pheophorbide A memiliki peran signifikan dalam aktivitas antioksidan. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Lanfer-Marquez pada tahun 2005 menunjukkan bahwa Pheophorbide A memiliki aktivitas antioksidan yang lemah pada konsentrasi 12,5 ppm dan mencapai aktivitas tertinggi pada konsentrasi 150 ppm.

4.3 Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

Aktivitas antioksidan mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* diuji melalui penggunaan metode DPPH (2,2-difenil-1-1-pikrilhidrazil) terhadap biomassa basah mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*. Metode ini dilakukan karena sifatnya yang sederhana, mudah, cepat, serta responsif terhadap sampel dengan konsentrasi rendah. Metode ini juga hanya membutuhkan sejumlah kecil sampel untuk melakukan analisis terhadap aktivitas antioksidan yang terkandung dalam senyawa bahan alam.

Prinsip dasar metode DPPH adalah penangkapan atom hidrogen oleh senyawa antioksidan terhadap DPPH (radikal bebas) yang kemudian mengalami reduksi menjadi senyawa non radikal yaitu 2,2-difenil-1-pikrilhidrazin. Intensitas warna ungu pada larutan mencerminkan jumlah radikal bebas dan nilainya sebanding dengan absorbansi pada pengukuran menggunakan spektrofotometer

UV-Vis. Jumlah radikal bebas (DPPH) dalam larutan akan meningkat seiring dengan peningkatan absorbansi larutan. Efektivitas peredaman radikal bebas dapat diamati dengan penurunan intensitas warna ungu dan perubahan warna menjadi kuning yang disertai dengan rendahnya nilai absorbansi larutan. Aktivitas peredaman radikal bebas diukur dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*) yang menunjukkan konsentrasi senyawa uji yang diperlukan untuk menghambat 50% dari aktivitas radikal bebas. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin kuat kemampuan menetralkan radikal bebas menandakan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi (Molyneux, 2004).

Larutan yang diuji dibuat dalam berbagai konsentrasi bertingkat untuk mendapatkan hubungan linear antara konsentrasi sampel dan persentase inhibisi DPPH oleh larutan uji. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Absorbansi yang diukur digunakan untuk menghitung persentase inhibisi dan nilai IC_{50} yang bertujuan untuk menentukan aktivitas antioksidan. Hasil uji aktivitas antioksidan dapat ditemukan dalam tabel berikut.

Tabel 9. Nilai IC_{50} Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

No	Modifikasi Media	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	Standar Deviasi (SD)	%RSD
1	NFI 1	1339,70	159,09	11,88
2	NFI 2	3658,12	53,39	1,46
3	NFI 3	45920,11	52,26	4,18
4	F/2 (kontrol)	3521,01	68,48	1,95

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan, modifikasi media pertumbuhan NFI 1 memiliki nilai aktivitas antioksidan terkuat yaitu IC_{50} sebesar 1339,70 $\mu\text{g/ml}$. Modifikasi media pertumbuhan NFI 3 memiliki nilai aktivitas antioksidan terlemah yaitu IC_{50} sebesar 45920,11 $\mu\text{g/ml}$. NFI 2 memiliki nilai aktivitas antioksidan yaitu IC_{50} sebesar 3658,12 $\mu\text{g/ml}$.

Jika mengacu pada literatur Molyneux (2004) nilai IC_{50} yang dimiliki masing-masing modifikasi media pertumbuhan termasuk ke dalam kategori sangat lemah. Dapat disimpulkan bahwa seluruh aktivitas antioksidan dari *Chlorella pyrenoidosa* tergolong tidak aktif.

Temuan yang menarik adalah hanya dibutuhkan nutrisi dalam jumlah kecil untuk memperoleh aktivitas antioksidan yang relatif lebih tinggi. Hal ini dapat

dilihat dari hasil aktivitas antioksidan pada penelitian ini, Media NFI 1 merupakan media yang diformulasikan memiliki kandungan larutan A dan larutan C yang lebih sedikit daripada kedua modifikasi media pertumbuhan. Media NFI 1 memiliki aktivitas yang tinggi dan cukup berbeda jika dibandingkan dengan dua perlakuan lainnya. Hal ini kemungkinan disebabkan mikroalga pada media pertumbuhan NFI 1 mengalami stress oksidatif akibat kekurangan nutrisi nitrogen dan fosfat. Stress oksidatif pada mikroalga akan merangsang peningkatan produksi senyawa seperti karotenoid dan klorofil yang lebih tinggi yang mengandung antioksidan sebagai respons pertahanan terhadap radikal bebas yang dihasilkan selama kondisi stress (Gauthier et. al, 2020). Namun, temuan ini perlu dikonfirmasi lebih lanjut pada studi lanjutan yang menekankan pada aktivitas antioksidan jika beberapa nutrisi pada media pertumbuhan dibuat sedikit agar terjadi stress oksidatif pada mikroalga.

Walaupun media NFI 1 memiliki aktivitas yang tinggi, ketiga modifikasi media pertumbuhan pada mikroalga tersebut memiliki nilai yang kecil atau termasuk dalam kategori antioksidan sangat lemah. Hal ini dapat diasumsikan bahwa mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* baik yang ditumbuhkan dengan modifikasi media pertumbuhan pupuk maupun dengan media F/2 asli tidak memiliki banyak senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan. Sifat antioksidan hanya berasal dari senyawa biopigmen yaitu *Pheophorbide A* (berasal dari klorofil) dan *β -carotene* saja yang diperkuat oleh hasil identifikasi senyawa bioaktif menggunakan UPLC-QToF-MS. Sebagian besar senyawa yang teridentifikasi didominasi oleh kelompok asam amino dan asam lemak.

Selain karena tidak memiliki banyak senyawa bioaktif yang bersifat antioksidan, asumsi lainnya adalah tidak menggunakan metode yang tepat untuk pengujian antioksidan. Pada penelitian yang telah dilakukan digunakan metode DPPH. Metode DPPH ini lebih cocok digunakan untuk senyawa yang mengandung polifenol (Nishant et al., 2012). Senyawa mikroalga yang teridentifikasi menggunakan UPLC-QToF-MS tidak banyak memiliki kandungan polifenol. Kemungkinan metode yang cocok digunakan adalah ORAC (*Oxygen Radical Absorbance Capacity*). ORAC merupakan salah satu metode yang umum digunakan untuk mengukur kapasitas antioksidan sampel terhadap pereduksi radikal oksigen (Aristizabal, 2012). Metode ORAC didesain khusus untuk

mengukur kapasitas sampel dalam menangkap oksigen radikal yang mencakup berbagai jenis radikal bebas. Ini sesuai dengan aktivitas antioksidan yang umumnya dimiliki oleh karotenoid dan klorofil yang berkaitan langsung dengan proses fotosintesis yang melibatkan aktivitas oksigen.

Kemungkinan lain yang dapat menyebabkan nilai antioksidan kecil pada mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* adalah bahwa tidak semua senyawa antioksidan bereaksi secara positif dengan DPPH karena adanya interaksi sinergis dan antagonis. Campuran senyawa yang berinteraksi secara sinergis dapat meningkatkan nilai aktivitas antioksidan, sementara campuran senyawa yang berinteraksi secara antagonis dapat mengurangi nilai aktivitas antioksidan (Nenadis dan Tsimidou, 2002; Sonam dan Guleria, 2017). Pada penelitian ini tidak dilakukan ekstraksi menggunakan pelarut organik, sehingga senyawa-senyawa seperti klorofil dan karotenoid yang memiliki efek sinergis di dalam mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* tidak dipisahkan dari senyawa-senyawa yang memiliki efek antagonis. Senyawa-senyawa yang memiliki efek antagonis bersifat lebih dominan dan mampu menurunkan nilai aktivitas antioksidan. Penelitian dari Bariyyah (2013) melakukan ekstraksi pada sampel *Chlorella sp.* menggunakan pelarut metanol dan etil asetat. Hasilnya ekstrak mikroalga dalam pelarut metanol dan etil asetat memiliki aktivitas antioksidan berturut-turut yaitu 18,610 ppm dan 27,320 ppm yang menandakan mikroalga *Chlorella sp.* memiliki nilai antioksidan yang tinggi.

Faktor lain yang mungkin menyebabkan nilai antioksidan yang rendah adalah kekuatan dinding sel *Chlorella sp.* Kekuatan dinding sel ini dapat menghambat proses ekstraksi sehingga tidak semua zat aktif dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dapat diekstraksi secara optimal. Sebagian dari dinding sel mikroalga mengandung selulosa dan beberapa spesies bahkan memiliki tambahan tri-laminar sheat (TLS) yang mengandung algaenan, yaitu suatu substansi yang dikenal karena kestabilannya terhadap degradasi (Versteegh & Blokker, 2004). Untuk mengatasi hal ini, sonikasi dapat dilakukan guna memecah dinding sel mikroalga agar semua zat aktif dari *Chlorella pyrenoidosa* dapat diekstraksi sepenuhnya.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* dapat tumbuh di media pertumbuhan modifikasi F/2 dengan komponen pupuk NPK, pupuk Meroke Fitoflex, dan vitamin IPI.
2. Hasil identifikasi senyawa menggunakan UPLC-QToF-MS pada mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* menunjukkan bahwa senyawa yang terdeteksi dan digolongkan sebagai biopigmen yaitu klorofil dan karotenoid. Sebagian besar senyawa yang teridentifikasi didominasi oleh senyawa kompleks, protein, dan asam lemak.
3. Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* yang memiliki aktivitas antioksidan terbaik dimiliki oleh media pertumbuhan NFI 1 dengan nilai IC₅₀ sebesar 1339,70 µg/ml. Namun, ketiga modifikasi media pertumbuhan *Chlorella pyrenoidosa* memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat lemah.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengeksplorasi modifikasi media pertumbuhan F/2.
2. Melakukan metode pengujian antioksidan yang cocok seperti metode ORAC, melakukan ekstraksi menggunakan pelarut organik, dan sonikasi.
3. Melakukan uji lainnya dari mikroalga *Chlorella pyrenoidosa* lainnya yang sebagian besar didominasi oleh kelompok asam amino dan asam lemak.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdurrachman, O., Mutiara, M., Buchori, L. 2013. Pengikatan Karbon Dioksida Dengan Mikroalga (*Chlorella vulgaris*, *Chlamydomonas* sp., *Spirulina* sp.) Dalam Upaya Untuk Meningkatkan Kemurnian Biogas. *J. Teknol. Kim. Dan Ind.* Vol 2 (5).
- Adawiah, A., Sukandar, D., Muawanah, A. 2016. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Komponen Bioaktif Sari Buah Namnam. *J. Kim.* Val. 0.
- Afriani, A. P., dan Nurulita, Y. 2020. Pola TIC (Total Ion Current) LCMS-MS Ekstrak Etilasetat dari Produksi Metabolit Sekunder *Penicillium* sp. LBKURCC34 dengan Variasi Konsentrasi Glukosa. *Student Paper.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Riau. Riau.
- Agustini, N. S. W., dan Winarni, A. H. 2017. Karakteristik Dan Aktivitas Antioksidan Sabun Padat Transparan Yang Diperkaya Dengan Ekstrak Kasar Karotenoid *Chlorella pyrenoidosa*. *JPB Kelautan dan Perikanan.* Vol. 12 No. 1: 1-12
- Anggraeni, O. N., Fasya, A. G., Abidin, M., Hanapi, A. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, Dan N-Heksana Hasil Hidrolisis Ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella* Sp. *ALCHEMY.* Vol. 3 No. 2: 173-188
- Badarinath, A. V., Rao, K. M., Chetty, C. M. S., Ramkanth S., Rajan, T. V. S dan Gnanaprakash, K. 2010. A review on in-vitro antioxidant methods: comparisons, correlations and considerations. *Inter JI Pharma Technol Res.* Vol. 2(2): 1276-1285.
- Barra, L., Chandrasekaran, R., Corato, F., C, Brunet., 2014. The Challenge Of Ecophysiological Biodiversity For Biotechnological Applications Of Marine Microalgae. *Marine drugs.* Vol. 12(3): 641-1675.
- Barriyah, S. K., Fasya, A. G., Abidin, M., & Hanapi, A. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan Terhadap Dpph Dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella* Sp. Hasil Kultivasi Dalam Medium Ekstrak Tauge. *Alchemy.* Vol. 2 No. 3: 150-204
- Brahmantara, I. B. G., Anggreni, A. A. M. D., Gunam, I. B. W., 2015. Pengaruh Konsentrasi Penambahan Sodium Nitrat dan Sodium Fosfat Pada Media Guillard Terhadap Konsentrasi Biomassa Mikroalga *Nannochloropsis* sp. *J. Rekayasa Dan Manaj. Ind.* Vol. 3. No. 9.
- Cahyadi, Wisnu. 2008. Analisis dan Aspek Kesehatan Bahan Tambahan Pangan. 2nd ed. Bumi Aksara.

- Christenson, L. dan Sims, R. 2011. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. *Biotechnol.* Vol 29: 686-702.
- Dinata, K. D. W., Anggreni, A. A. M. D., Antara, N. S., 2017. Pengaruh Konsentrasi Natrium Nitrat dan Natrium Dehidrogen Fosfat pada Media Walne Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Protein *Nannochloropsis oculata*. *J. Rekayasa Dan Manaj. Agroindustri.* Vol 5. No. 9.
- Endar, V. H. 2012. Pengaruh Penggunaan Dua Jenis Media Kultur Teknis yang Berbeda terhadap Pola Pertumbuhan, Kandungan Protein dan Asam Lemak Omega 3 EPA (*Chaetoceros gracilis*). *Journal of Aquaculture Management and Technology.* Vol 1: 221-235.
- Erlidawati, Safrida, Mukhlis. 2018. Potensi Antioksidan Sebagai Antidiabetes. University Press Darussalam. Banda Aceh.
- Faure. H., Galabert, G., Le Moel, G., dan Nabet, F. 1999. Karotenoid: metabolisme dan fisiologi. *Annales de Biologie Clinique.* Vol. 57: 169-183.
- Fernández-Linares, L.C., Barajas, G.C., Páramo, D.E., Corona, B.J.A. 2017 Assessment of *Chlorella vulgaris* and Indigenous microalgae biomass with treated wastewater as growth culture medium. *Bioresour. Technol.* Vol. 244: 400–406.
- Fiedor, J., dan Burda, K. 2014. Potential Role of Carotenoids as Antioxidants in Human Health and Disease. *Nutrients.* Vol. 6: 466-488.
- Fikri, M., S. Rejeki and L.L. Widowati. 2015. Produksi dan Kualitas Rumput Laut (*Eucheuma cottonii*) dengan Kedalaman Berbeda di Perairan Bulu Kabupaten Jepara. *Journal of Aquaculture Management And Technology.* Vol 4 (2): 67-74.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., dan Susilowati, R. 2015. Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina Sp.*, *Chlorella Sp.*, Dan *Nannochloropsis Sp.* *JPB Kelautan dan Perikanan.* Vol. 10 No. 2: 101–109.
- Fu, W., Guomundsson, Ó., Paglia, G., Herjólfsson, G., Andrésson, Ó.S., Palsson, B.O., Brynjólfsson, S. 2013. Enhancement of carotenoid biosynthesis in the green microalga *Dunaliella salina* with light-emitting diodes and adaptive laboratory evolution. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 97: 2395–2403.
- Fuad, N., Omar, R., Kamarudin, S., Harun, R., and Idris, A. 2018. Mass harvesting of marine microalgae using different techniques. *Food Bioprod. Process.* Vol. 112: 169–184.

- Gao, F., Yang, H., Li, C., Peng, Y., Lu, M., Jin, W., *et al.* 2019. Effect of organic carbon to nitrogen ratio in wastewater on growth, nutrient uptake and lipid accumulation of a mixotrophic microalgae *Chlorella* sp. *Bioresour. Technol.* Vol. 282: 118–124.
- Gauthier, M. R., Senhorinho, G. N. A., dan Scott, J. A. 2020. Microalgae under environmental stress as a source of antioxidants. *Algal Research* 52 (2020) 102104.
- Gultom, S. O. 2018. MIKROALGA: SUMBER ENERGI TERBARUKAN MASA DEPAN. *Jurnal Kelautan: Indonesian Journal of Marine Science and Technology*. Vol. 11(1): 95.
- Hadiyanto dan Azim, M. 2016. Dasar-Dasar Bioproses. Pertama. Semarang: EF Press Digimedia.
- Hakim, A., Muti'ah, R., Aprinda, R., Suryadinata, A., Maslakhah, F.N. 2018. Metabolite Profiling Bagian Akar, Batang, Daun, dan Biji *Helianthus annuus* L. Menggunakan UPLC-MS. *Jurnal Media Pharmaceutica Indonesiana*. Vol. 2 No. 2.
- Hernandi, R., Dharma, A. dan Armaini, A. 2019. Penapisan, isolasi, dan karakterisasi mikroalga yang berpotensi sebagai sumber biodiesel dari perairan Danau Kerinci, Jambi. *Jurnal Litbang Industri*, Vol. 9 (1): 41-49.
- Holdt, S. L., Kraan, S. 2011. Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Journal of Applied Phycology*. Vol. 23: 543–597.
- Irianti, Kuswandi, Nuranto, Purwanto. 2021. Antioksidan dan Kesehatan. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Isiramen, O. E., Bahri, P. A., Moheimani, N. R., Vadiveloo, A., Shayesteh, H., dan Parlevliet, D. A. 2022. Improving pH control and carbon dioxide utilization efficiency in microalgae cultivation systems with the use of a Proportional-integral + dead-zone control strategy. *Bioresour. Technol.* Rep. 17:100917.
- Jorquera, O., Kiperstok, A., Sales E. A., Embiruçu M., Ghirardi M.L. 2010. Comparative Energy Life-Cycle Analyses of Microalgae Biomass Production in Open Ponds and Photobioreactors, *Bioresour Technol.* Vol 101: 1406–1413.
- Kang, K. H. 2011. Characterization of Growth and Protein Contents from Microalgae *Navicula incerta* with the Investigation of Antioxidant Activity of Enzymatic Hydrolysates. *Food Science and Biotechnology*. Vol. 20 (1): 183-191.

- Kawaroe, M. 2008. Potensi Beberapa Mikroalga Sebagai Bahan Baku Biodiesel. Pusat Penelitian Surfaktan Dan Bio energi. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Khotimah, K. 2016. Skrining Fitokimia dan Identifikasi Metabolit Sekunder Senyawa Karpain Pada Ekstrak Metanol Daun *Carica pubescens* Lenne Dan *K. Koch* dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-tandem Mass Spectrometry). Skripsi. Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim, Malang.
- Lanfer-Marquez, U. M., Barros, R. M. C., dan Sinnecker, P. Antioxidant activity of chlorophylls and 487 their derivatives. *Food Res. Int.* Vol. 38: 885-91.
- LPPT UGM. 2017. Kalibrasi – Laboratorium Penelitian Dan Pengujian Terpadu.
- Maity, S., and Mallick, N. 2022. Trends and advances in sustainable bioethanol production by marine microalgae: a critical review. *J. Clean. Prod.* 345:131153.
- Marthia, N. 2020. Pengaruh Jenis Media Kultur Terhadap Konsentrasi Biomassa *Nannochloropsis Sp.* *Pasundan Food Technology Journal (PFTJ)*. Vol 7 (3).
- Masojidek, J., M. Koblizek, & G. Torzillo. 2004. Photosynthesis in microalgae in: A. Richmond (Ed). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*. Blakwell Science Ltd., Iowa. p.20-39.
- Molyneux, P. 2004. The Use of Stable Free Radical Diphenyl Picrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Scu. Techno.* Vol. 26 (2): 211-219.
- Najjar, Y. S. H., and Abu-Shamleh, A. 2020. Harvesting of microalgae by centrifugation for biodiesel production: a review. *Algal Res.* 51:102046.
- Negara, B. F. S., Nursalim, N., Herliany, N. E., Renta, P. P., Purnama, D., & Utami, M. A. F. 2019. Peranan dan Pemanfaatan Mikroalga *Tetraselmis chuii* Sebagai Bioetanol. *Jurnal Enggano*. Vol 4(2): 136–147.
- Nenadis, N. dan Tsimidou, M. 2002. Observation on the estimation of scavenging activity of phenolic compounds using rapid 1,1-diphenyl-2- picrylhydrazyl (DPPH) tests. *Journal of the American Oil Chemists Society*. Vol 79: 1191–1195.
- Nio Song, A., & Banyo, Y. 2011. Konsentrasi Klorofil Daun Sebagai Indikator Kekurangan Air Pada Tanaman. *Jurnal Ilmiah Sains*. Vol. 11(2): 166–173.
- Nishant, R., Jigisha, A., Navin, K., dan Pankaj, G. 2012. Green tea : A magical herb with miraculous outcomes. 3(May), 139–148.

- Novianti, T., Zainuri, M., dan Widowati, I. 2019. Aktivitas Antioksidan dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella Vulgaris* Yang Dikultivasi Berdasarkan Sumber Cahaya Yang Berbeda. *Barakuda*. Vol. 45 1(2): 72-87.
- Ortiz, A., García, J., Uggetti, E., and Díez-Montero, R. 2022. Optimization of multi-stage thickening of biomass in a demonstrative full-scale microalgaebased wastewater treatment system. *Sep. Purif. Technol.* 281:119830.
- Pantami, H. A., Bustamam, M. S. A., Lee, S. Y., Ismail, I. S., Faudzi, S. M. M., Nakakuni, M., Shaari. 2020. Comprehensive GCMS and LC-MS/MS Metabolite Profiling of *Chlorella vulgaris*. *Mar. Drugs*. Vol: 18: 367
- Peterson, F., Risberg, J., 2008. Nutrients: Phosphorus, Nitrogen Sources, Impact on Water Quality 2.
- Pitojo, S. 2008. Khasiat Cincau Perdu. Online. Tersedia di www.books.google.co.id/books?id=dOUSHVktfQ5UC&pg=PT23&dq=klorofil+daun&hl=id&sa=X&redir_esc=y#v=onepage&q=klorofil%20daun&f=false.html. Diakses 25 Februari 2024.
- Priyadarshani I., Rath B. 2012. Commercial and industrial applications of microalgae: A review. *Journal of Algal Biomass Utilization*.
- Rafaelina, M. 2015. Pertumbuhan Dan Aktivitas Antioksidan Dari Mikroalga *Porphyridium Cruentum* Dan *Chlorella Sp.* *Skripsi*. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Jakarta, Jakarta.
- Ramírez-Aristizabal, L. S., Ortiz, A., & Ospina-Ocampo, L. F. 2015. Evaluation of the antioxidant capacity and characterization of phenolic compounds obtained from tea (*Camellia sinensis*) for products of different brands sold in Colombia. *Pharmacologyonline*. Vol 3: 149–159.
- Rosahdi, T.D., Susanti, Y., Suhendar, D., 2015. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Biopigmen Pada Fraksi Aseton Dari Mikroalga *Chlorella vulgaris*. Vol 9. No. 16.
- Santoso, A. D. 2017. Pemanenan Mikroalga Dengan Metode Sedimentasi. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*. Vol. 10 (1).
- Saputro, B. R., Kusdiyantini, E., & Kusumaningrum, H. P. 2015. Pertumbuhan Mikroalga Sebagai Penghasil Lipid Pada Medium Campuran Antara Air Kelapa Dan Air Laut. *Jurnal Akademika Biologi*.
- Sari, A. S. P., Ratnasari, E., Wisanti, 2012. Pengaruh Pemberian Jenis Pupuk yang Berbeda terhadap Laju Pertumbuhan Populasi dan Kadar Lemak *Nannochloropsis oculata*. *Lentera Biol.* Vol. 1. No. 7.

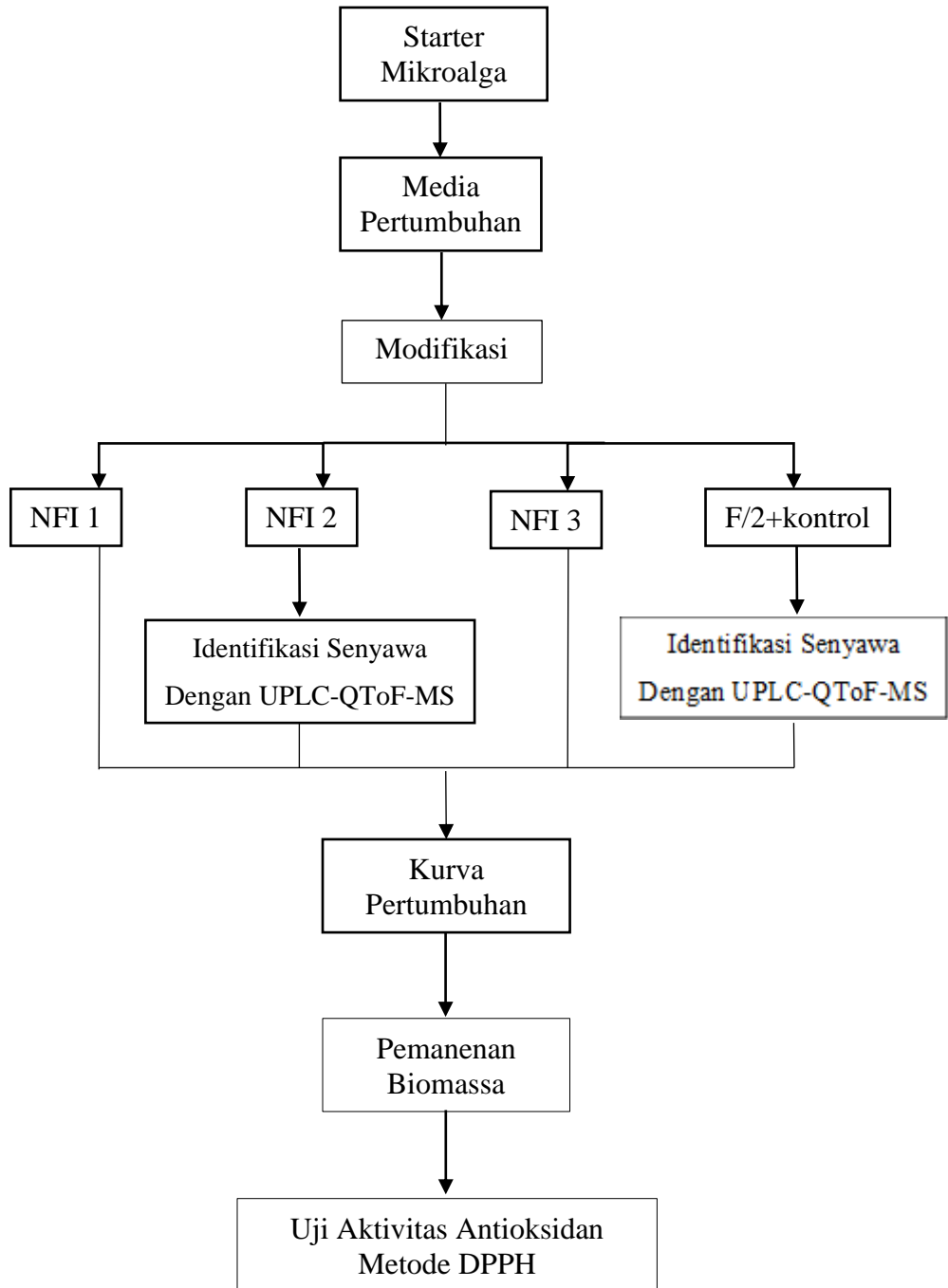
- Sayuti, K., Yenrina, R., 2015. *Antioksidan Alami dan Sintetik*. Andalas University Press. Padang.
- Scott, S.A., Davey, M.P., Dennis, J.S., Horst, I., Howe, C.J., Lea-Smith, D.J., Smith, A.G. 2010. Biodiesel from algae: Challenges and Prospects. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol 21: 227–286.
- Silalahi, M. 2014. *Buku Bahan Ajar Taksonomi Tumbuhan Rendah*. Universitas Kristen Indonesia. Jakarta.
- Singh, A., Ummalyma, S. B., and Sahoo, D. 2020. Bioremediation and biomass production of microalgae cultivation in river water contaminated with pharmaceutical effluent. *Bioresour. Technol.* 307:123233.
- Sonam, K.S. dan Guleria, S. 2017. Synergistic Antioxidant Activity of Natural Product. *Annals of Pharmacology and Pharmaceutics*. Vol 2(8): 1-6.
- Supomo, Sa'adah, H., Syamsul, E.S., Kintoko, Witasari, H.A., Noorcahyati. 2021. *Khasiat Tumbuhan Akar Kuning Berbasis Bukti*. Yogyakarta : Nas Media Pustaka.
- Syawal, Y., Maarisit, W., Jan, T. T., & Pinontoan, R. 2019. Skrining Aktivitas Antioksidan dari Mikroalga. *Biofarmasetikal Tropis (The Tropical Journal of Biopharmaceutical)*. Vol. 2(2): 23–33.
- Teo, C. L., Atta, M., Bukhari, A., Taisir, M., Yusuf, A. M., and Idris, A. 2014. Enhancing growth and lipid production of marine microalgae for biodiesel production via the use of different LED wavelengths. *Bioresour. Technol.* Vol. 162: 38–44.
- Trikuti, I. K., Anggraeni, A. A. M. D., dan Gunam, I. B. W. 2016. Pengaruh Jenis Media Terhadap Konsentrasi Biomassa dan Kandungan Protein Mikroalga *Chaetoceros calcitrans*. *REKAYASA DAN MANAJEMEN AGROINDUSTRI*. Vol. 4(2): 13-22.
- Versteegh, G.J.M., dan Blokker, P. 2004. Resistant macromolecules of extant and fossil microalgae. *Phycological Research*. Vol 52: 325–339.
- Vishnu, N., dan Sumathi, R. 2014. Isolation of fresh water microalgae *Chlorella* sp. and its antimicrobial activity on selected pathogens. *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* Vol. 1: 36-43.
- Werdhasari, A., 2014. Peran Antioksidan Bagi Kesehatan. *Biotek Medisiana Indonesia*. Vol 1.
- Wu, Q., Guo, L., Li, X., and Wang, Y. 2021. Effect of phosphorus concentration and light/dark condition on phosphorus uptake and distribution with microalgae. *Bioresour. Technol.* 340:125745.

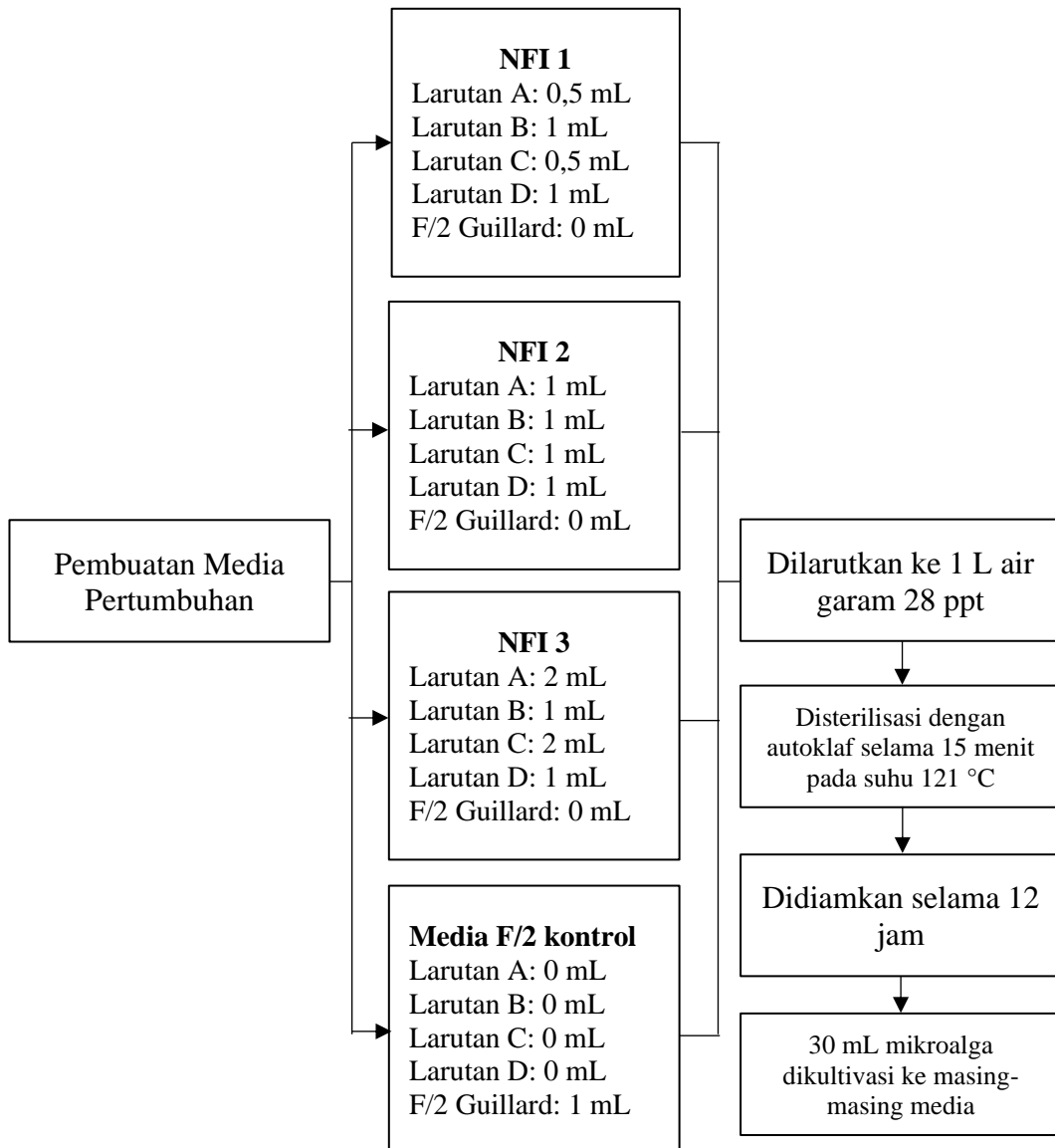
- Yang, Z., Gao, F., Liu, J., Yang, J., Liu, M., Ge, Y. 2022. Improving sedimentation and lipid production of microalgae in the photobioreactor using saline wastewater. *Bioresour. Technol.* 347:126392.
- Yuliana, A., Arianti, W. 2020. Pengukuran Zat Warna *Monascus purpureus* Menggunakan UPLC-QTOF-MS. *Jurnal Ilmu Ilmu Keperawatan, Analisis Kesehatan dan Farmasi*. Vol. 20 (1).
- Yustiningsih, M. 2019. Intensitas Cahaya dan Efisiensi Fotosintesis pada Tanaman Naungan dan Tanaman Terpapar Cahaya Langsung. *Bio-Edu: Jurnal Pendidikan Biologi*. Vol. 4(2): 44–49.
- Zeng, J., Wang, Z., and Chen, G. 2021. Biological characteristics of energy conversion in carbon fixation by microalgae. *Renew. Sustain. Energy Rev.* 152:111661.

LAMPIRAN

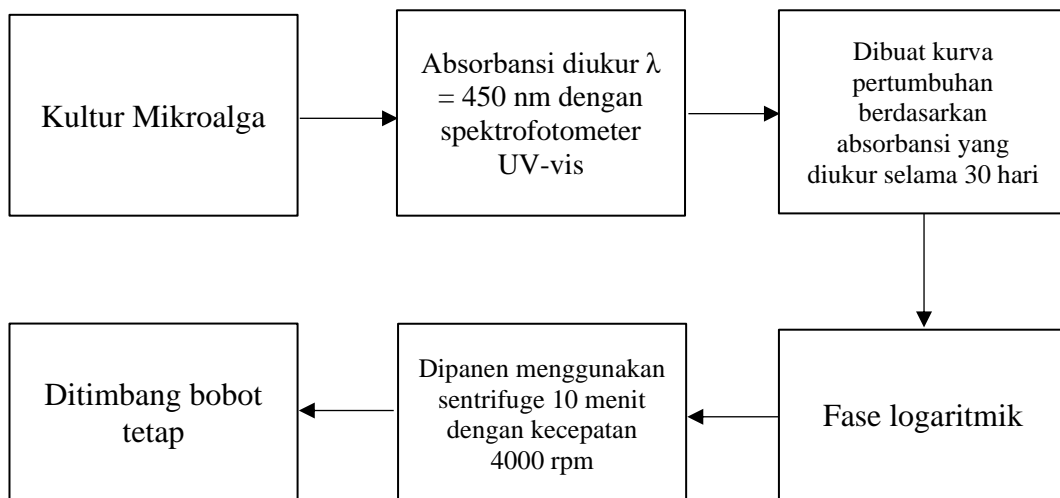
Lampiran 1. Diagram Alir Penelitian

A. Diagram Alir Umum Penelitian

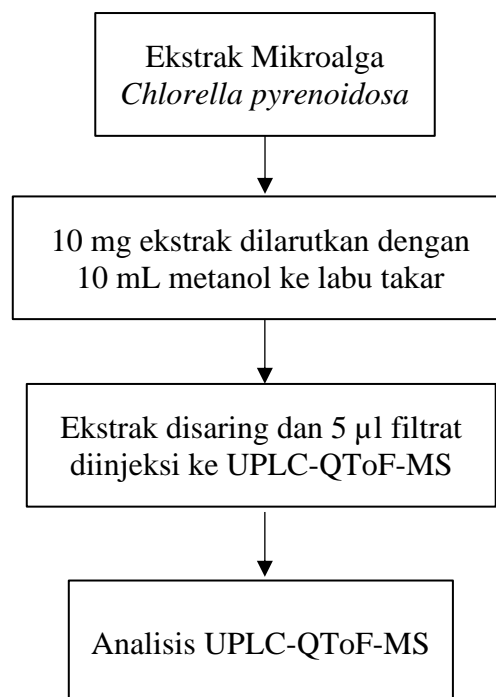


B. Diagram Alir Pembuatan Media Pertumbuhan dan Kultivasi Mikroalga

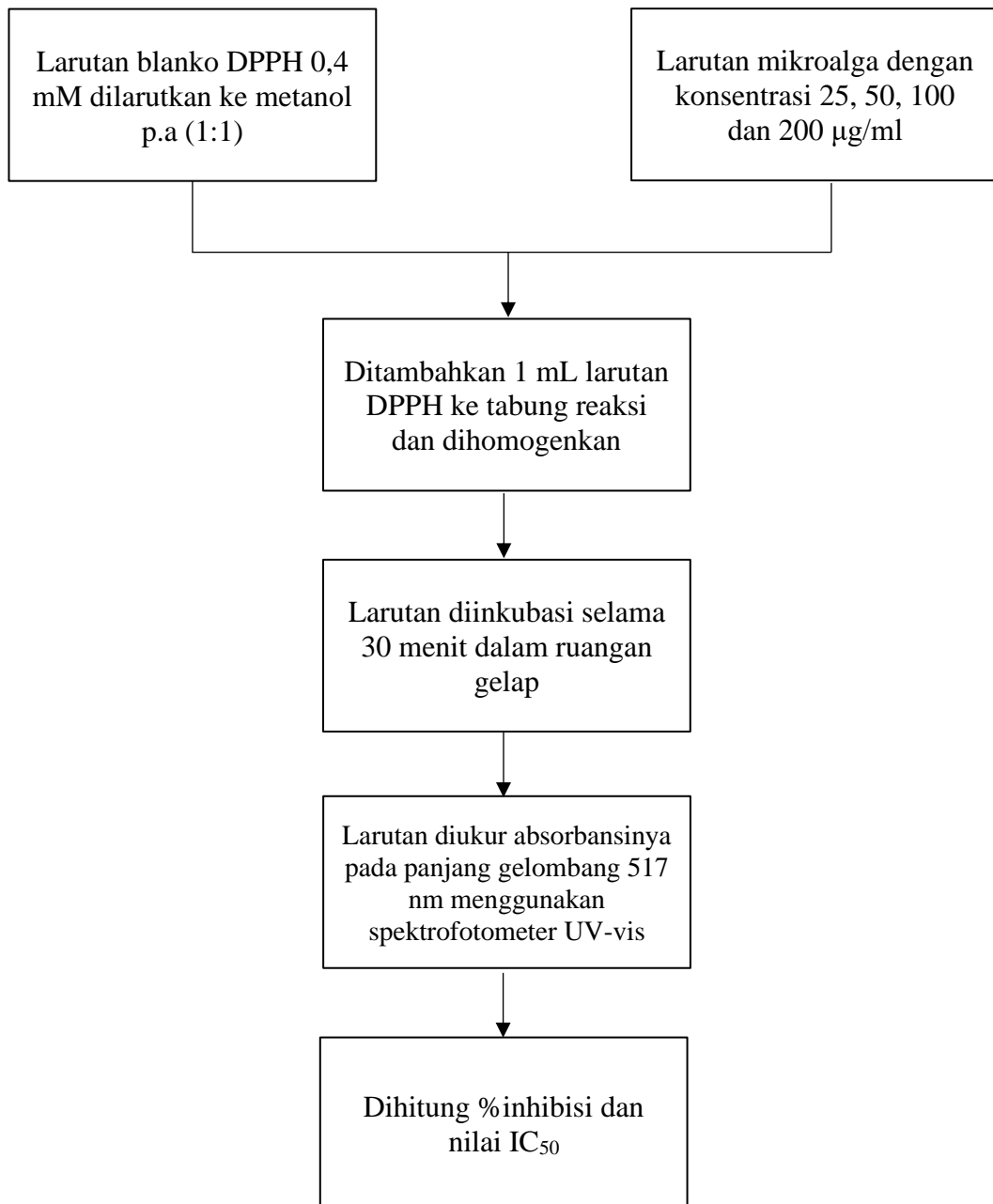
C. Diagram Alir Pembuatan Kurva Pertumbuhan dan Pemanenan Biomassa



D. Diagram Alir Identifikasi Senyawa Menggunakan UPLC-QToF-MS



E. Diagram Alir Analisis Antioksidan



Lampiran 2. Pembuatan Bahan

1. Pembuatan Larutan A, B, C, dan D Media Pertumbuhan

Larutan A dibuat dari 10 g pupuk NPK, kemudian dimasukkan ke labu takar 100 mL, dilarutkan dengan aquades, dan dihomogenkan. Larutan B dibuat dari 5,7 mL $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 58%, kemudian dimasukkan ke labu takar 100 mL, dilarutkan dengan aquades, dan dihomogenkan. Larutan C dibuat dari 25 g pupuk fitoflex, kemudian dimasukkan ke labu takar 100 mL, dilarutkan dengan aquades, dan dihomogenkan. Larutan D dibuat dari 0,1 mL vitamin B12 20 ppm; 1 mL biotin 0,1 ppm; dan 0,4 g vitamin B1 kemudian dimasukkan ke labu takar 1 L, dilarutkan dengan aquades, dan dihomogenkan.

2. Pembuatan Larutan Air Garam 28 ppt

Garam kasar ditimbang sebanyak 28 gram. Lalu dimasukkan ke labu takar 1000 mL, dilarutkan dengan aquades, dan dihomogenkan.






3. Pembuatan Larutan Induk DPPH




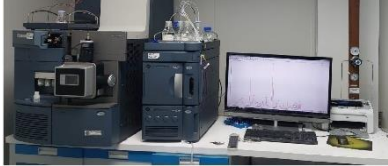

DPPH (BM 394,32) ditimbang sebanyak 7,9 mg. Kemudian dilarutkan dengan metanol p.a dan dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL, kemudian dihomogenkan. Setelah itu larutan dimasukkan ke botol wadah gelap.

4. Pembuatan Larutan Induk Mikroalga

Biomassa mikroalga masing-masing modifikasi media pertumbuhan ditimbang sebanyak 1 gram. Kemudian dilarutkan dengan metanol p.a, dimasukkan ke labu ukur 10 mL, dan dihomogenkan.

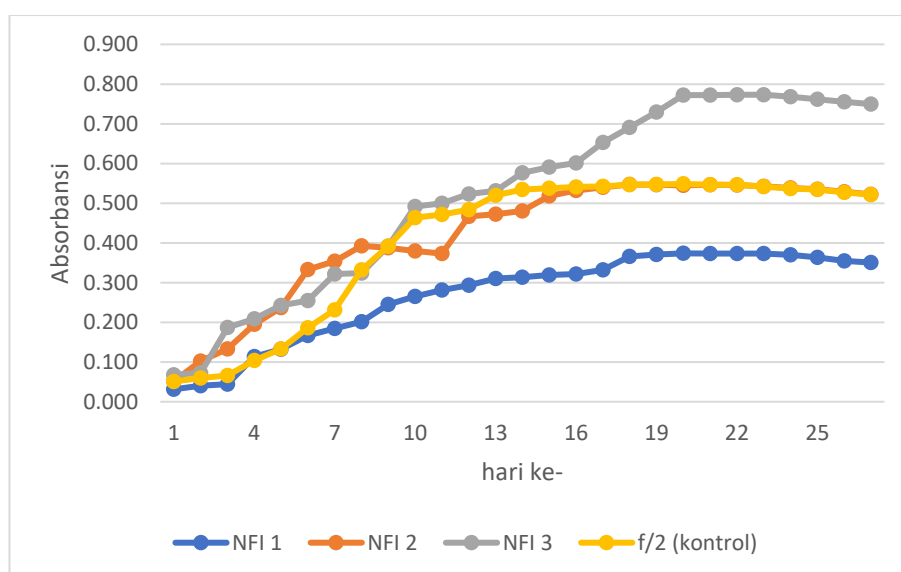
Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian

No	Perlakuan	Gambar
1	Pembuatan Media Pertumbuhan	<p data-bbox="855 327 1273 360">Pembuatan Media Pertumbuhan</p>  <p data-bbox="951 651 1177 685">Starter mikroalga</p> 
2	Kultivasi Mikroalga	<p data-bbox="935 1081 1190 1115">Kultivasi Hari ke- 1</p>  <p data-bbox="935 1346 1190 1379">Kultivasi Hari ke-8</p>  <p data-bbox="935 1621 1190 1655">Kultivasi hari ke-15</p> 

		<p>Kultivasi Hari ke- 20 (Fase eksponensial)</p> 
3	Pemanenan Biomassa	 
4	Analisis UPLC-QToF-MS	
5	Analisis Antioksidan	

Lampiran 4. Kurva Pertumbuhan Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

Hari ke-	Absorbansi NFI 1				Absorbansi NFI 2				Absorbansi NFI 3				Absorbansi F/2 (kontrol)			
	1	2	3	Rata-rata	1	2	3	Rata-rata	1	2	3	Rata-rata	1	2	3	Rata-rata
1	0,032	0,030	0,032	0,031	0,050	0,052	0,052	0,051	0,070	0,066	0,068	0,068	0,051	0,049	0,053	0,051
2	0,040	0,039	0,042	0,040	0,100	0,105	0,103	0,103	0,075	0,070	0,072	0,072	0,060	0,058	0,062	0,060
3	0,045	0,044	0,045	0,045	0,133	0,132	0,133	0,133	0,189	0,185	0,186	0,187	0,064	0,066	0,068	0,066
4	0,112	0,115	0,114	0,114	0,195	0,197	0,192	0,195	0,211	0,208	0,208	0,209	0,102	0,105	0,104	0,104
5	0,134	0,130	0,133	0,132	0,237	0,238	0,236	0,237	0,245	0,240	0,243	0,243	0,132	0,131	0,135	0,133
6	0,168	0,166	0,167	0,167	0,334	0,332	0,333	0,333	0,256	0,252	0,255	0,254	0,187	0,185	0,186	0,186
7	0,183	0,185	0,186	0,185	0,354	0,351	0,356	0,354	0,323	0,320	0,322	0,322	0,230	0,233	0,232	0,232
8	0,202	0,200	0,202	0,201	0,395	0,392	0,391	0,393	0,324	0,322	0,325	0,324	0,331	0,332	0,333	0,332
9	0,245	0,243	0,246	0,245	0,388	0,388	0,386	0,387	0,395	0,389	0,392	0,392	0,390	0,390	0,395	0,392
10	0,267	0,264	0,265	0,265	0,380	0,381	0,379	0,380	0,494	0,490	0,492	0,492	0,465	0,462	0,464	0,464
11	0,282	0,283	0,280	0,282	0,375	0,374	0,371	0,373	0,500	0,498	0,502	0,500	0,470	0,473	0,471	0,471
12	0,294	0,294	0,293	0,294	0,464	0,471	0,465	0,467	0,523	0,523	0,524	0,523	0,483	0,485	0,482	0,483
13	0,309	0,310	0,312	0,310	0,471	0,472	0,474	0,472	0,532	0,530	0,531	0,531	0,518	0,521	0,520	0,520
14	0,312	0,314	0,315	0,314	0,482	0,480	0,479	0,480	0,578	0,575	0,576	0,576	0,533	0,535	0,536	0,535
15	0,319	0,319	0,320	0,319	0,520	0,519	0,515	0,518	0,589	0,590	0,593	0,591	0,538	0,535	0,539	0,537
16	0,321	0,323	0,321	0,322	0,530	0,533	0,532	0,532	0,602	0,603	0,600	0,602	0,540	0,543	0,540	0,541
17	0,333	0,331	0,332	0,332	0,539	0,540	0,542	0,540	0,656	0,649	0,653	0,653	0,542	0,542	0,542	0,542
18	0,365	0,367	0,365	0,366	0,546	0,547	0,548	0,547	0,689	0,693	0,690	0,691	0,547	0,548	0,545	0,547
19	0,370	0,372	0,371	0,371	0,547	0,545	0,548	0,547	0,732	0,729	0,727	0,729	0,547	0,549	0,546	0,547
20	0,375	0,374	0,372	0,374	0,545	0,546	0,544	0,545	0,774	0,773	0,770	0,772	0,547	0,550	0,549	0,549
21	0,374	0,374	0,372	0,373	0,548	0,545	0,547	0,547	0,772	0,771	0,773	0,772	0,546	0,547	0,547	0,547
22	0,375	0,374	0,370	0,373	0,545	0,546	0,546	0,546	0,773	0,773	0,772	0,773	0,545	0,548	0,546	0,546
23	0,375	0,373	0,372	0,373	0,544	0,543	0,540	0,542	0,774	0,775	0,771	0,773	0,540	0,542	0,543	0,542
24	0,369	0,370	0,370	0,370	0,539	0,538	0,538	0,538	0,770	0,768	0,766	0,768	0,538	0,536	0,537	0,537
25	0,364	0,364	0,362	0,363	0,538	0,535	0,532	0,535	0,764	0,762	0,760	0,762	0,535	0,533	0,535	0,534
26	0,355	0,356	0,353	0,355	0,530	0,529	0,527	0,529	0,758	0,754	0,755	0,756	0,529	0,527	0,527	0,528
27	0,350	0,352	0,351	0,351	0,525	0,522	0,520	0,522	0,750	0,751	0,748	0,750	0,522	0,523	0,520	0,522



Lampiran 5. Hasil Biomassa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

Media Pertumbuhan	Ulangan	Bobot vial kosong (g) (W0)	Bobot vial + biomassa (g) (W1)	Bobot biomassa (g) (W)	Bobot biomassa rata-rata (g)
NFI 1	1	17,1392	19,0939	1,9547	1,9118
	2	17,3433	19,2122	1,8689	
NFI 2	1	17,7879	21,1856	3,3977	3,5321
	2	16,9023	20,5687	3,6664	
NFI 3	1	16,8239	22,0673	5,2434	5,3778
	2	17,4636	22,9758	5,5122	
F/2 (kontrol)	1	17,1913	20,5911	3,3998	3,2434
	2	17,4956	20,5825	3,0869	

Contoh Perhitungan:

$$W = W1 - W0$$

Keterangan :

W = Bobot biomassa (g)

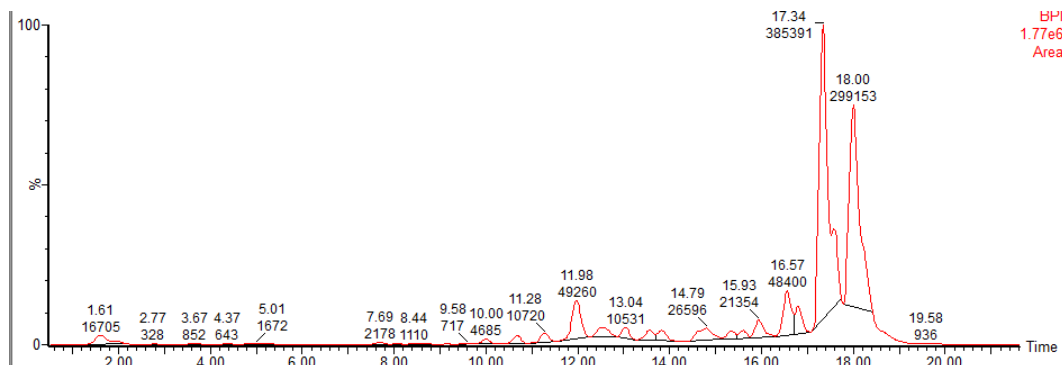
W0 = Bobot botol vial (g)

W1 = Bobot botol vial + bobot biomassa (g)

$$\begin{aligned} \text{Bobot Biomassa (g)} &= 19,0939 \text{ g} - 17,1392 \text{ g} \\ &= 1,9547 \text{ g} \end{aligned}$$

Lampiran 6. Daftar Hasil Identifikasi Senyawa Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

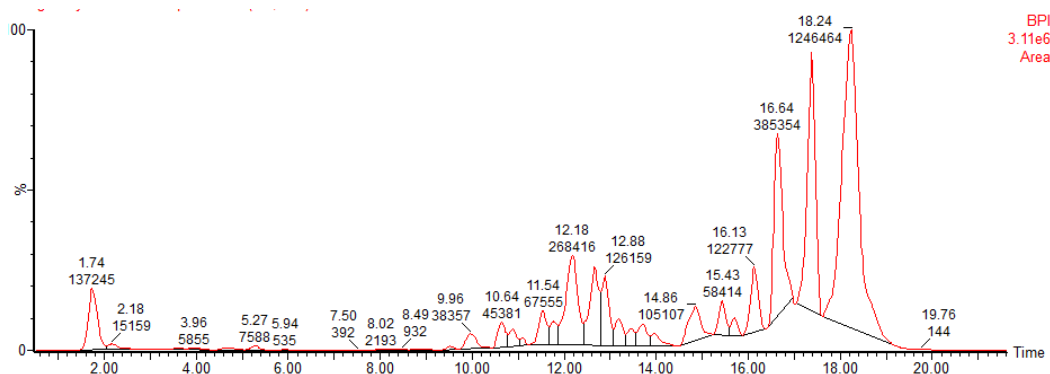
• Media NFI 2



No	Waktu Retensi	m/z	Luas Area	%Luas Area	Rumus Molekul	Nama Senyawa
1	1,61	143,1	16705	1,71	C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₂	2-(2-Oxo-1-pyrrolidinyl)acetamide (piracetam)
2	2,77	132,1	328	0,03	C ₆ H ₁₃ NO ₂	Leusin
3	3,67	166,1	852	0,09	C ₅ H ₇ N ₇	Phenylalanine
4	4,37	188,1	643	0,07	C ₁₁ H ₉ NO ₂	3-Indolylacrylic acid
5	5,02	250,2	1672	0,17	C ₃ H ₁₉ N ₁₁ O	Tidak diketahui
6	7,69	541,3	2178	0,22	C ₃₁ H ₄₀ O ₈	2,2-Propanediylbis(4,1-phenyleneoxy-2,1-ethanediyl) bis(2-methylacrylate)
7	8,44	325,2	265	0,03	C ₁₆ H ₂₈ N ₄ O ₃	1-Azepanyl[4-(4-morpholinylcarbonyl)-1-piperazinyl]methanone
8	8,67	569,3	1110	0,11	C ₄₀ H ₅₆ O ₂	Lutein
9	9,58	587,2	731	0,08	C ₁₇ H ₁₄ N ₂₄ O ₂	Tidak diketahui
10	10,00	225,2	717	0,07	C ₁₃ H ₂₄ N ₂ O	1,3-Dicyclohexylurea
11	10,68	274,3	4685	0,48	C ₁₆ H ₃₅ NO ₂	2,2'-(Dodecylimino)diethanol
12	11,28	214,3	8460	0,87	C ₁₄ H ₃₁ N	1-Dodecanamine, N,N-dimethyl-
13	11,98	599,4	10720	1,10	C ₄₀ H ₅₄ O ₄	Halocynthiaxanthin
14	12,60	520,3	49260	5,06	C ₂₁ H ₃₇ N	1-[9Z,12Z-octadecadienoyl]-sn-glycero-3-phosphocholine
15	13,04	599,4	15435	1,58	C ₄₀ H ₅₄ O ₄	Halocynthiaxanthin
16	13,56	583,4	10531	1,08	C ₄₀ H ₅₄ O ₃	Diadinoxanthin
17	13,82	332,3	11818	1,21	C ₂₃ H ₄₁ N	Benzylamine
18	14,79	583,4	12284	1,26	C ₄₀ H ₅₄ O ₃	Diadinoxanthin
19	15,34	583,4	26596	2,73	C ₄₀ H ₅₄ O ₃	Diadinoxanthin
20	15,60	593,3	9281	0,95	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	Pheophorbide A
21	15,93	654,2	8155	0,84	C ₃₁ H ₃₆ N ₇ OS ₃ Cl	Tidak diketahui
22	16,57	607,3	21354	2,19	C ₃₅ H ₄₂ O ₉	Pheophorbide B
23	16,79	750,5	48400	4,97	C ₄₀ H ₆₃ N ₉ O ₅	N'-[13-(aminomethyl)-6-methyl-13-[[5-oxo-5-[(1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino]pentanoyl]amino]-1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl]-N-(1-phenylpropan-2-yl)pentanediamide

24	17,34	764,5	26800	2,75	C ₄₀ H ₆₅ N ₁₁ O ₄	tert-butyl N-[3-[4-[[[4-[[1-(2-aminoethyl)piperidin-4-yl]amino]quinazolin-2-yl]amino]methyl]triazol-1-yl]propyl]-N-[3-[cyclohexyl-[(2-methylpropan-2-yl)oxycarbonyl]amino]propyl]carbamate
25	17,58	764,5	385391	39,55	C ₄₃ H ₇₃ NO ₁₀	(2S,5S)-1-[2,3,4,6-Tetrakis-O-(2,2-dimethylpropanoyl)-β-L-glucopyranosyl]-5-undecyl-2-vinyl-3-pyrrolidinone
26	18,00	766,5	299153	30,70	C ₄₃ H ₇₅ NO ₁₀	1-O-[(2R)-2,3-di(hexadecanoyloxy)propyl] 4-O-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl) butanedioate
27	19,58	167,0	936	0,10	C ₆ H ₂ N ₂ O ₄	2,3-Pyrazinedicarboxylate

• **Media Kontrol F/2**



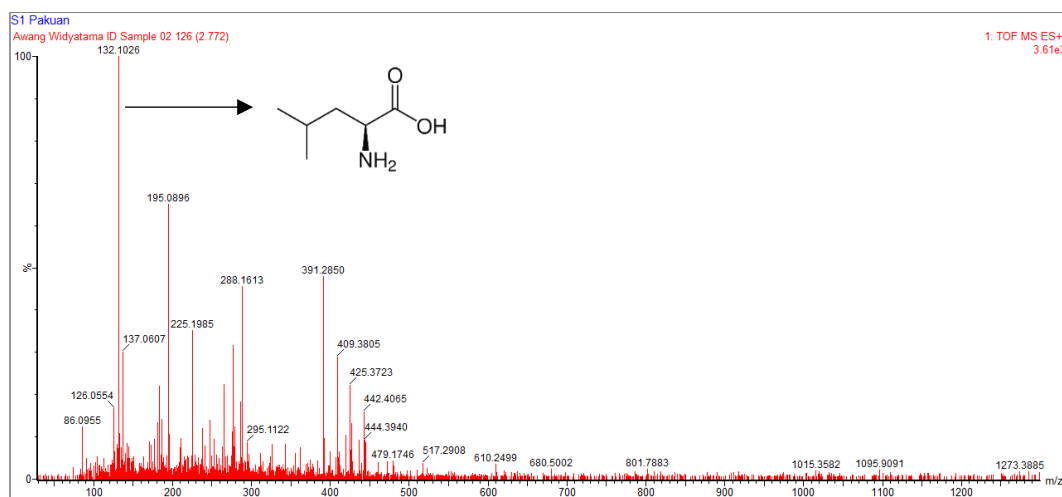
No	Waktu Retensi	m/z	Luas Area	%Luas Area	Rumus Molekul	Nama Senyawa
1	1,74	365,1	137245	3,79	C ₁₀ H ₁₆ N ₆ O ₉	2-(3,5-dioxo-1,2,4-triazinan-1-yl)acetic acid;hydrate
2	2,18	365,1	15159	0,42	C ₁₀ H ₁₆ N ₆ O ₉	2-(3,5-dioxo-1,2,4-triazinan-1-yl)acetic acid;hydrate
3	3,08	132,1	1487	0,04	C ₂ H ₉ N ₇	5-Tetrazolidinecarboximidohydrazide
4	3,61	288,2	3775	0,10	C ₈ H ₂₁ N ₁₁ O	Tidak diketahui
5	3,96	166,1	5855	0,16	C ₉ H ₁₁ NO ₂	DL-Phenylalanine
6	4,73	261,1	6124	0,17	C ₁₁ H ₂₀ N ₂ O ₅	α-Glutamylleucine
7	5,27	250,2	7588	0,21	C ₁₅ H ₂₃ NO ₂	Alprenolol
8	5,94	181,1	535	0,01	C ₁₁ H ₁₆ O ₂	4-Methoxy-2-(2-methyl-2-propanyl)phenol
9	6,81	642,3	178	0,00	C ₁₆ H ₃₁ N ₂₃ O ₄ S	Tidak diketahui
10	7,50	468,2	392	0,01	C ₂₀ H ₂₉ N ₅ O ₈	Asparaginy-phenylalanyl-threonyl-serine
11	8,02	541,3	2193	0,06	C ₁₈ H ₂₈ N ₂₀ O	Tidak diketahui
12	8,26	538,3	695	0,02	C ₂₀ H ₃₅ N ₁₃ O ₃ S	Tidak diketahui
13	8,49	538,3	932	0,03	C ₂₀ H ₃₉ N ₇ O ₁₀	poly-(His-Glu)-poly Ala-poly Lys
14	8,77	464,2	741	0,02	H ₂₁ N ₂₇ O ₂ S	Tidak diketahui
15	9,02	569,3	975	0,03	C ₂₀ H ₃₂ N ₂₀ O	Tidak diketahui
16	9,52	852,3	5530	0,15	C ₄₁ H ₄₁ N ₁₇ O ₃ S	Tidak diketahui
17	9,96	838,3	38357	1,06	C ₄₄ H ₅₁ N ₇ O ₈ S	N-[6-(6-Carbamoyl-7-methoxy-1-{{(2S)-5-oxo-2-pyrrolidinyl]methoxy}-

						4-isoquinolinyl)-5-hexynoyl]-3-methyl-L-valyl-(4R)-4-hydroxy-N-[4-(4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)benzyl]-L-prolinamide
18	10,64	836,3	45381	1,25	C ₄₄ H ₄₉ N ₇ O ₈ S	S- {1-[2-({3-[(3S,4S,21R)-14-Ethyl-21-(methoxycarbonyl)-4,8,13,18-tetramethyl-20-oxo-9-vinyl-3-phorbiny]propanoyl} amino)ethyl]-2,5-dioxo-3-pyrrolidinyl}-L-cysteine
19	10,88	490,3	30883	0,85	C ₂₂ H ₃₅ N ₉ O ₄	(2S)-5- {{Ammonio(imino)methyl}amino}-2- ({{(cis-4- {6-(dimethylamino)-9H-purin-9-yl]methyl} cyclohexyl)methoxy}carbonyl} amino)pentanoate
20	11,07	490,3	8636	0,24	C ₂₆ H ₃₉ N ₃ O ₆	N- {[1-(N- {[2-Methyl-2-propanyl]oxy}carbonyl}-L-leucyl)-4-piperidinyl]carbonyl}-L-phenylalanine
21	11,54	492,3	67555	1,87	C ₂₆ H ₄₁ N ₃ O ₆	N- {[2-Methyl-2-propanyl]oxy}carbonyl}-4-nitro-L-phenylalanine - N-cyclohexylcyclohexanamine
22	11,76	492,3	40372	1,11	C ₂₂ H ₃₇ N ₉ O ₄	2- {[3-({4-[(3-Aminopropyl]amino)butyl} amino)propyl]amino}-1-[4-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-yl)-1-piperazinyl]ethanone
23	12,18	599,4	268416	7,41	C ₄₀ H ₅₄ O ₄	Halocynthiaxanthin
24	12,66	520,3	180507	4,98	C ₂₂ H ₄₅ N ₇ O ₇	2- {(2R,3R,6S)-2- {[1R,2S,3S,4R,6S)-4,6-Diamino-3- {[3-deoxy-4-C-methyl-3-(methylamino)-L-arabinopyranosyl]oxy}-2-hydroxycyclohexyl]oxy}-6-[(1R)-1-(methylamino)ethyl]tetrahydro-2H-pyran-3-yl} guanidine
25	12,88	520,3	126159	3,48	C ₂₈ H ₄₅ N ₃ O ₆	3- {[(Benzyloxy)carbonyl]amino}-N- {[2-methyl-2-propanyl]oxy}carbonyl}-L-alanine - N-cyclohexylcyclohexanamine
26	13,18	599,4	54228	1,50	C ₄₀ H ₅₄ O ₄	(3S,3'R,5R,6S)-3,3'-Dihydroxy-7',8'-didehydro-5,6,7,8-tetrahydro-5,6-epoxy-β,β-caroten-8-one (Halocynthiaxanthin)
27	13,45	496,3	31494	0,87	C ₂₀ H ₄₅ N ₇ O ₇	N-[5-amino-4-[3-amino-6-(aminomethyl)-4,5-dihydroxyoxan-2-yl]oxy-2-[2-(2-aminoethylamino)ethoxy]-3-hydroxycyclohexyl]propanamide;methanamine
28	13,69	583,4	47275	1,31	C ₄₀ H ₅₄ O ₃	7',8'-Didehydro-5,6-dihydro-5,6-epoxy-β,β-carotene-3,3-diol (diadinoxanthin)
29	13,96	332,3	28830	0,80	C ₂₃ H ₄₁ N	N-Benzyl-N-octyl-1-octanamine (Benzylamine)
30	14,86	583,4	105107	2,90	C ₄₀ H ₅₄ O ₃	Diadinoxanthin
31	15,43	621,3	58414	1,61	C ₃₅ H ₄₀ O ₁₀	Dantaxusin A
32	15,69	593,3	28443	0,79	C ₃₅ H ₃₆ N ₄ O ₅	Pheoporbid A
33	16,13	535,3	122777	3,39	C ₃₂ H ₃₈ O ₇	Longirostrerone D
34	16,64	607,3	385354	10,64	C ₃₅ H ₄₂ O ₉	Pheoporbid B

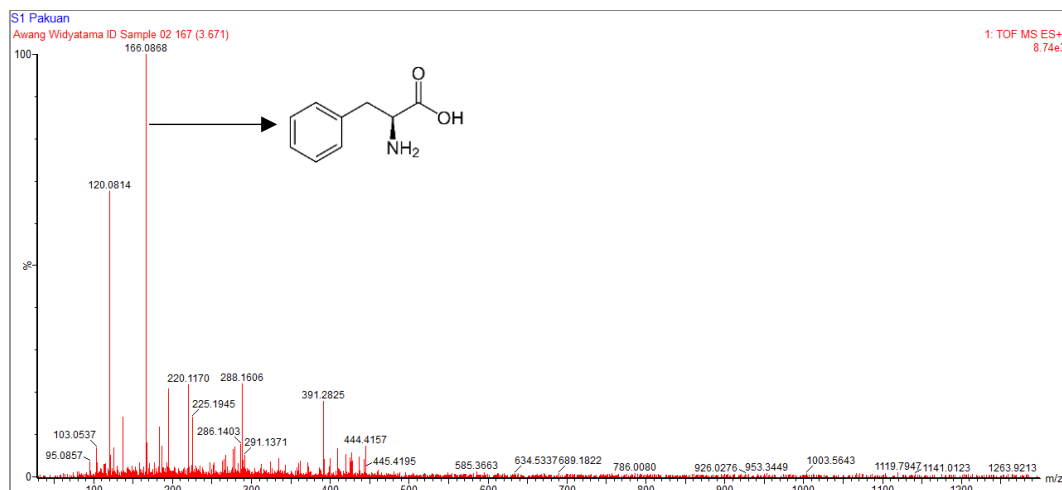
35	17,38	764,5	515893	14,24	C ₄₃ H ₇₃ NO ₁₀	(2S,5S)-1-[2,3,4,6-Tetrakis-O-(2,2-dimethylpropanoyl)-β-L-glucopyranosyl]-5-undecyl-2-vinyl-3-pyrrolidinone
36	18,24	766,5	1246464	34,42	C ₄₃ H ₇₅ NO ₁₀	1-O-[(2R)-2,3-di(hexadecanoyloxy)propyl] 4-O-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl) butanedioate
37	19,76	167,0	144	0,00	C ₆ H ₂ N ₂ O ₄	2,3-Pyrazinedicarboxylate

- **Spektrum Massa Senyawa yang Teridentifikasi**

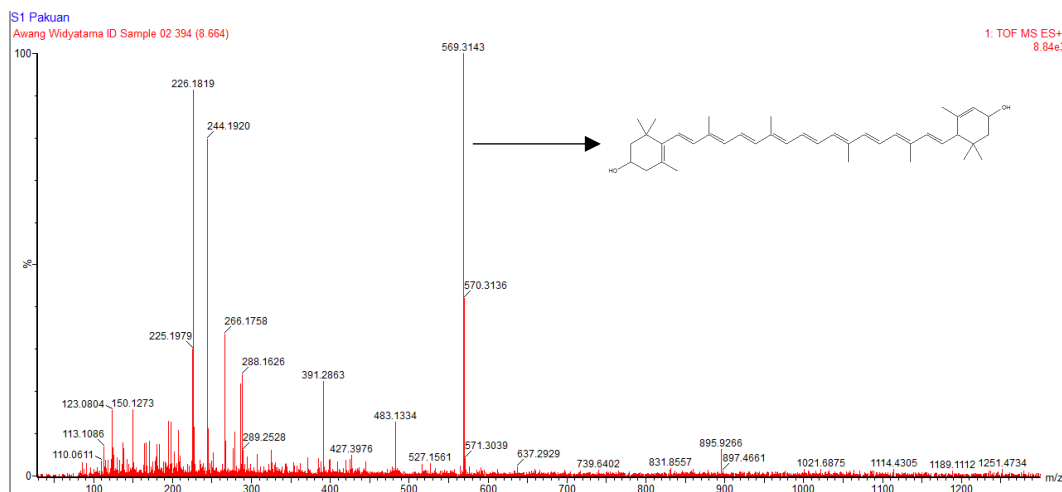
A. Leusin



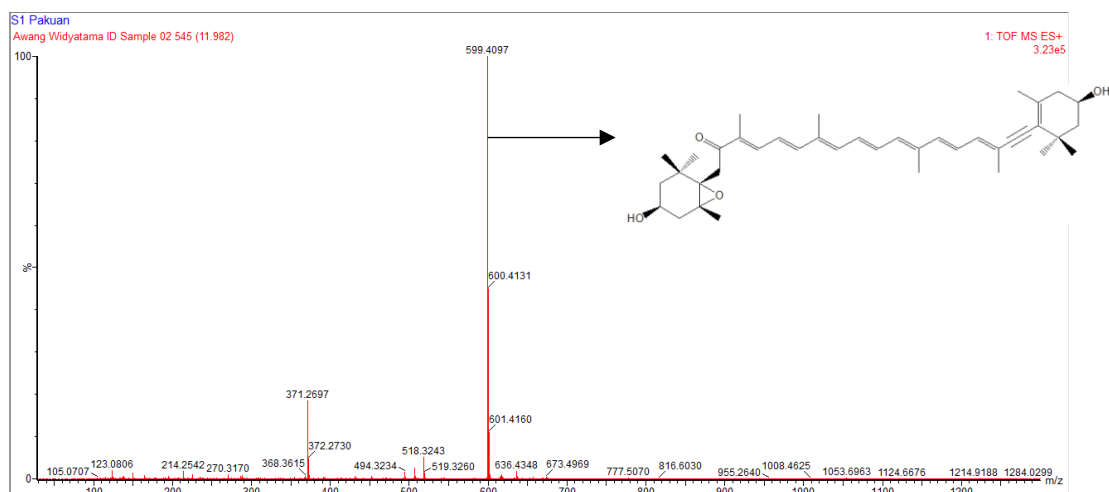
B. Phenylalanin



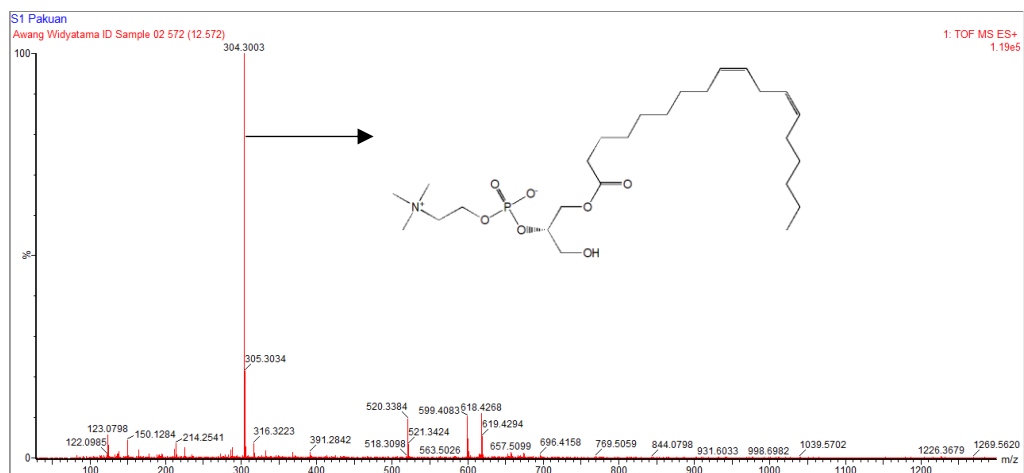
C. Lutein



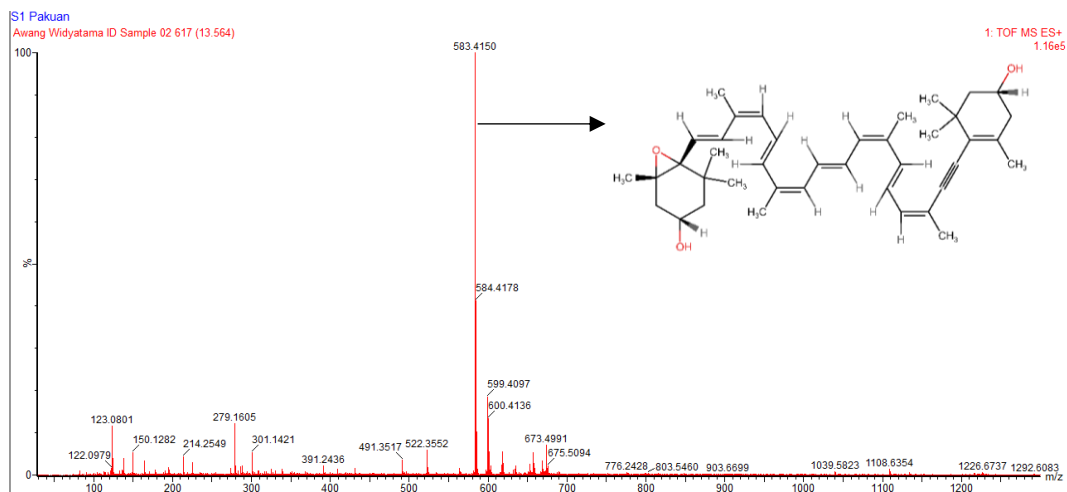
D. Halocynthiaxanthin



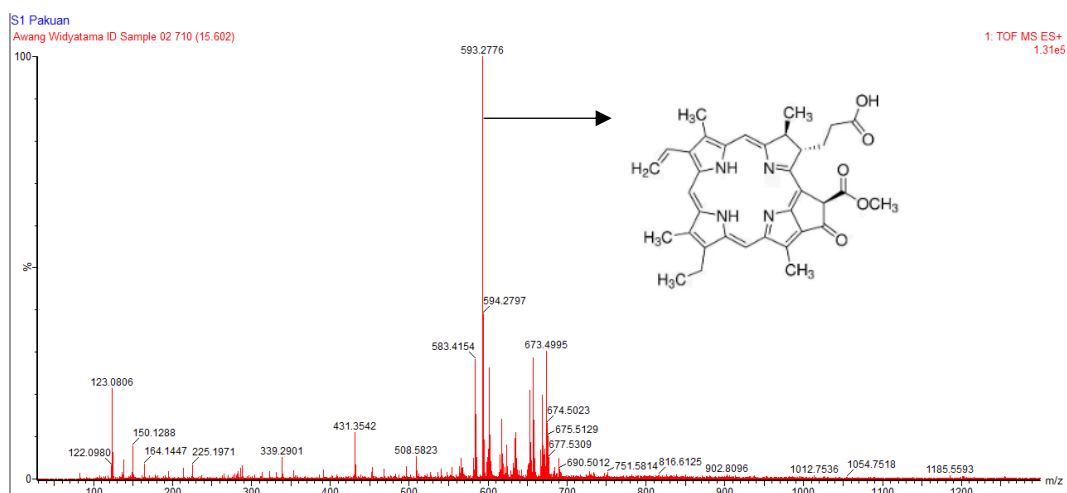
E. 1-[9Z,12Z-octadecadienoyl]-sn-glycero-3-phosphocholine



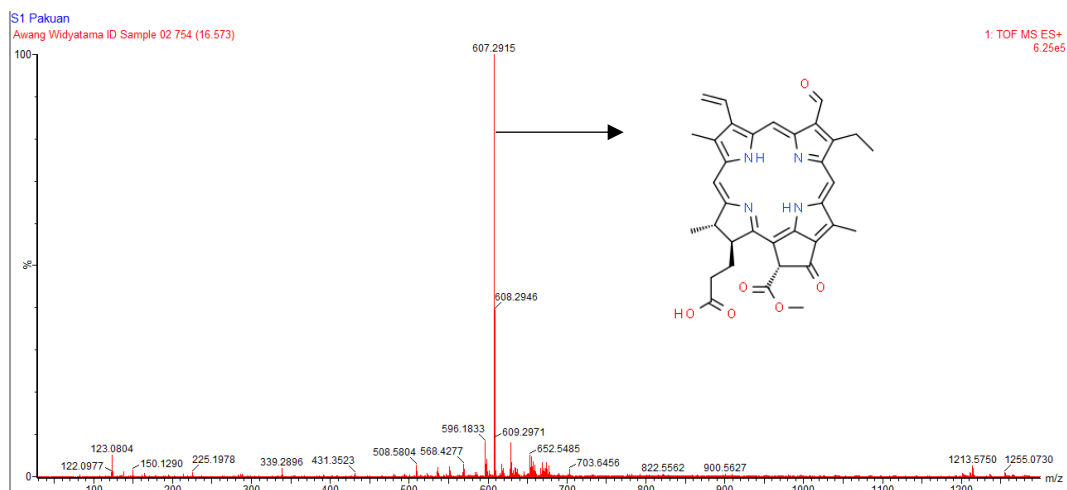
F. Diadinoxanhtin



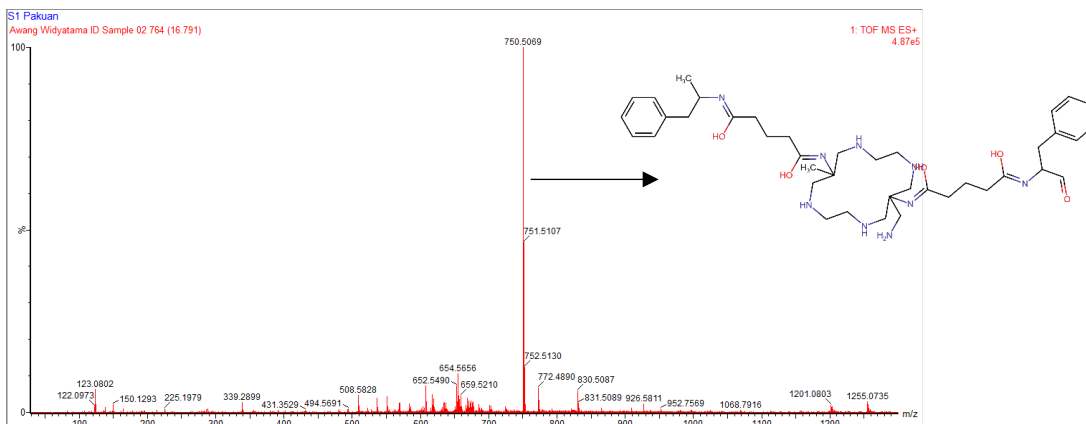
G. Pheophorbide A



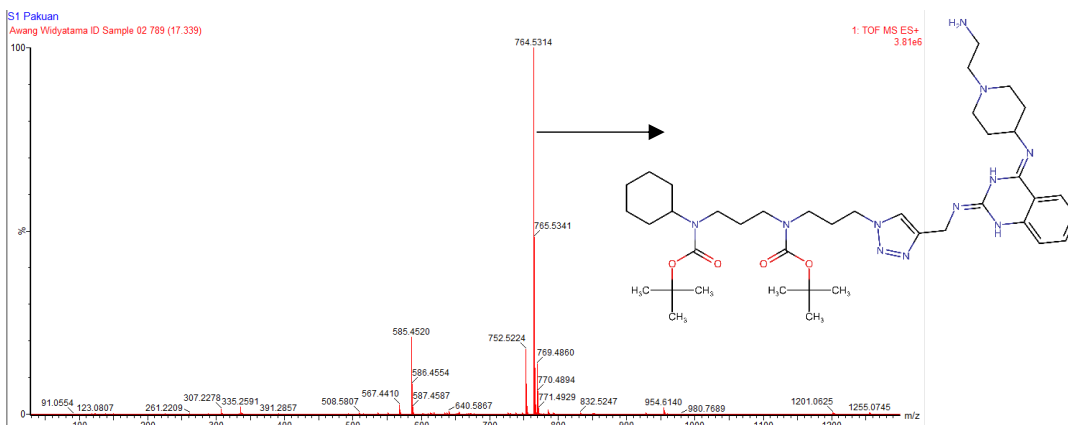
H. Pheophorbide B



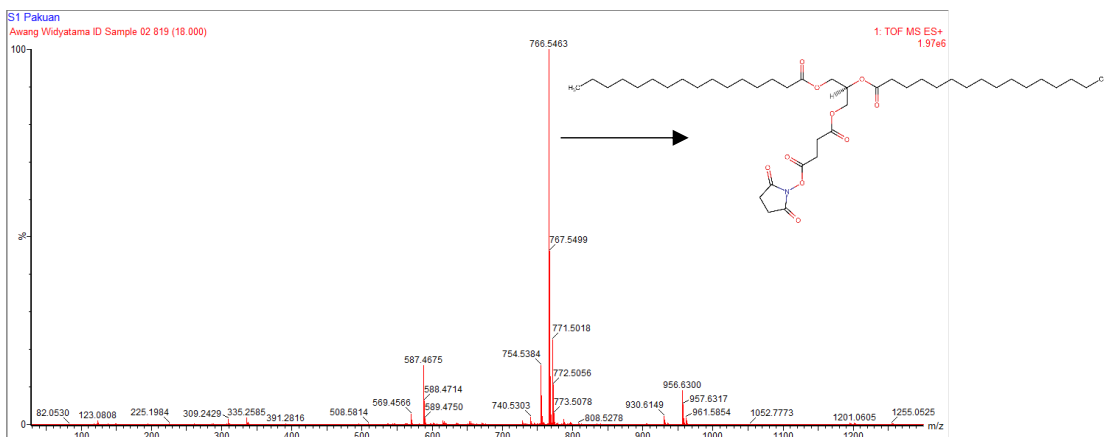
I. N'-[13-(aminomethyl)-6-methyl-13-[[5-oxo-5-[(1-oxo-3-phenylpropan-2-yl)amino]pentanoyl]amino]-1,4,8,11-tetrazacyclotetradec-6-yl]-N-(1-phenylpropan-2-yl)pentanediamide



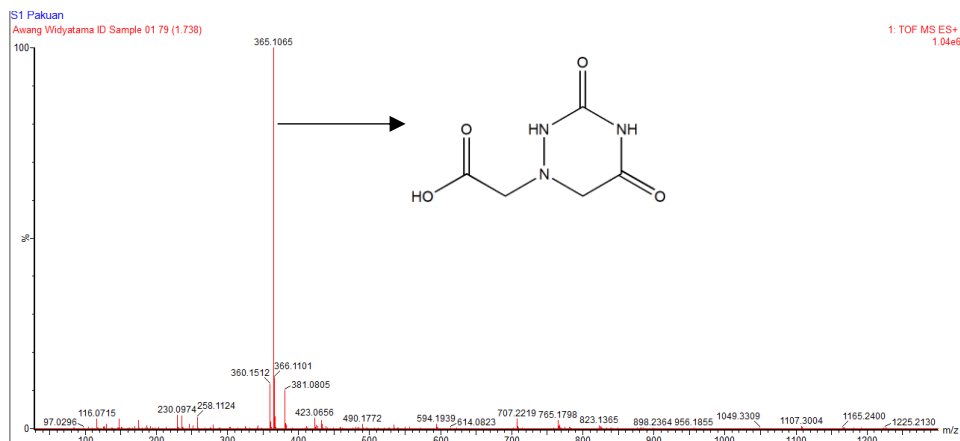
J. Tert-butyl-N-[3-[4-[[[4-[[1-(2-aminoethyl)piperidin-4-yl]amino]quinazolin-2-yl]amino]methyl]triazol-1-yl]propyl]-N-[3-[cyclohexyl-[(2-methylpropan-2-yl)oxycarbonyl]amino]propyl]carbamate



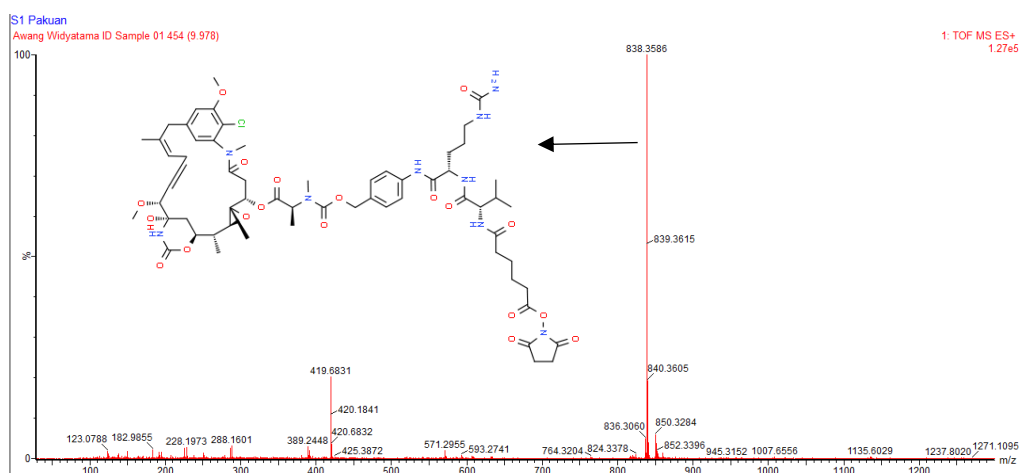
K. 1-O-[(2R)-2,3-di(hexadecanoyloxy)propyl]4-O-(2,5-dioxopyrrolidin-1-yl)butanedioate



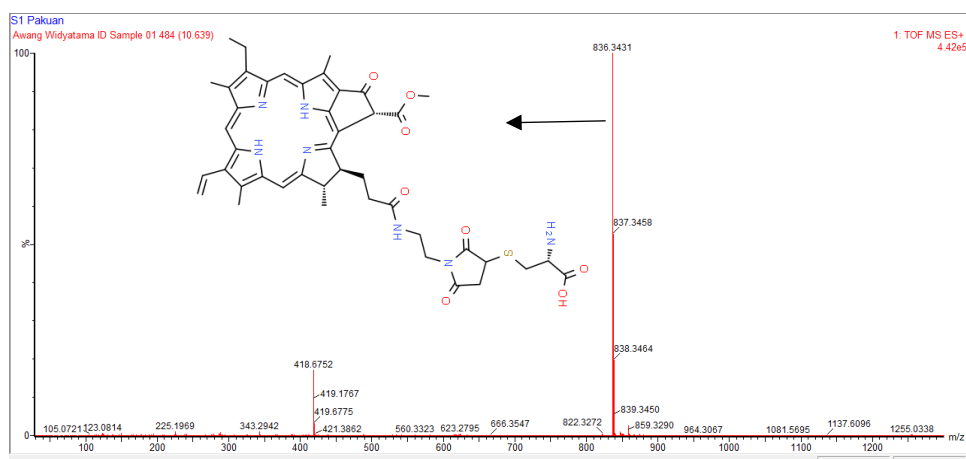
L. 2-(3,5-dioxo-1,2,4-triazinan-1-yl)acetic acid



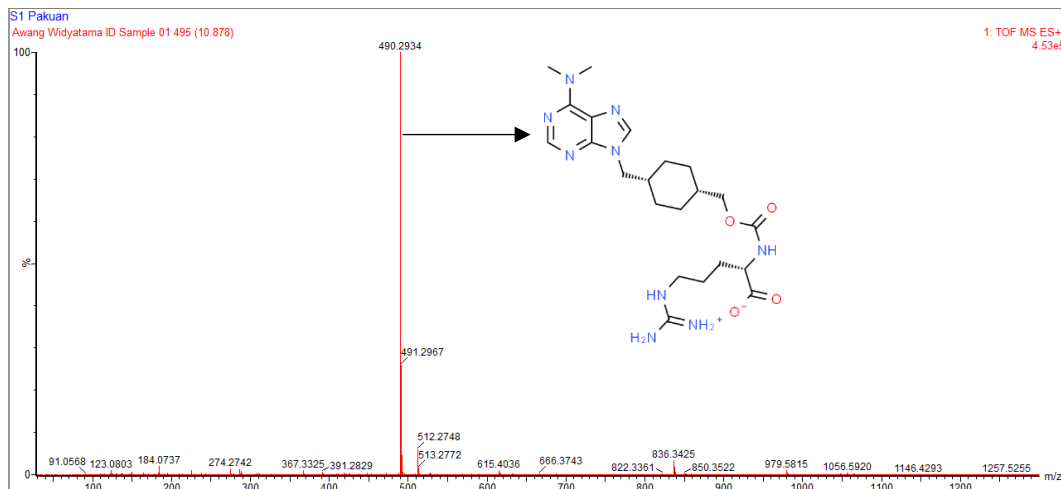
M. N-[6-(6-Carbamoyl-7-methoxy-1-{(2S)-5-oxo-2-pyrrolidinyl}methoxy)-4-isoquinolinyl]-5-hexynoyl]-3-methyl-L-valyl-(4R)-4-hydroxy-N-[4-(4-methyl-1,3-thiazol-5-yl)benzyl]-L-prolinamide



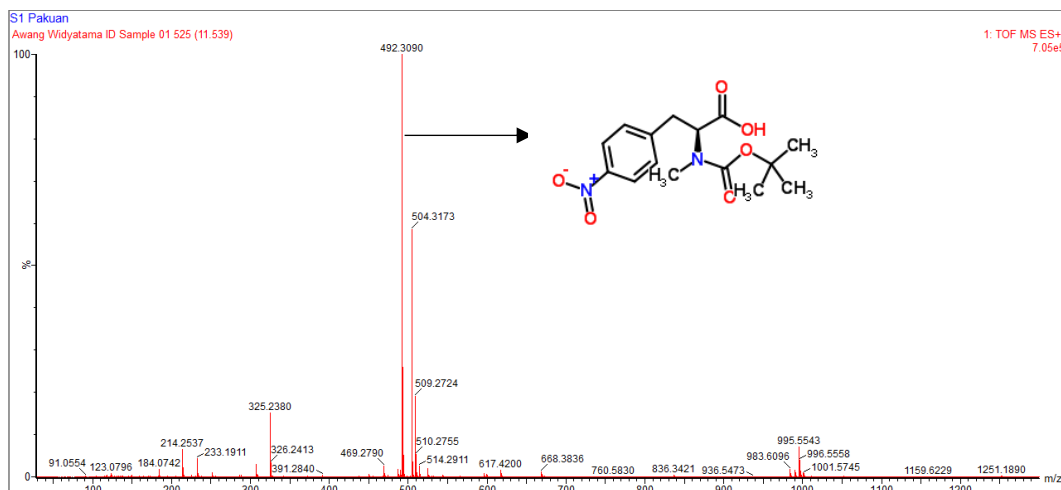
N. S-{1-[2-((3-(3S,4S,21R)-14-Ethyl-21-(methoxycarbonyl)-4,8,13,18-tetramethyl-20-oxo-9-vinyl-3-phorbinyll)propanoyl)amino)ethyl]-2,5-dioxo-3-pyrrolidinyl}-L-cysteine



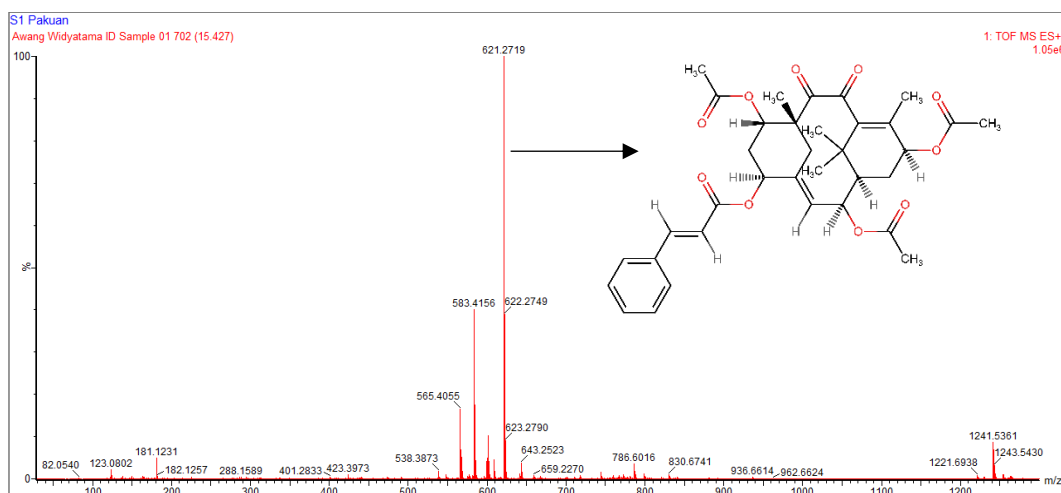
O. (2S)-5-[[Ammonio(imino)methyl]amino]-2-({[(cis-4-{[6-(dimethylamino)-9H-purin-9-yl]methyl}cyclohexyl)methoxy]carbonyl}amino)pentanoate



P. N-{{(2-Methyl-2-propanyl)oxy}carbonyl}-4-nitro-L-phenylalanine-N-cyclohexylcyclohexanamine



Q. Dantaxusin A



Lampiran 7. Perhitungan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Chlorella pyrenoidosa*

1. Media Pertumbuhan NFI 1

Konsentrasi (µg/mL)	Ulangan 1			Konsentrasi (µg/mL)	Ulangan 2		
	Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi		Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi
109	0,277	0,244	11,91	150	0,277	0,235	15,16
220		0,231	16,61	300		0,222	19,86
660		0,184	33,57	560		0,182	34,30
2200		0,087	68,59	2300		0,050	81,95
Persamaan regresi linier	y = 0,026x + 11,5968 r = 0,9926 IC ₅₀ = 1452,19			Persamaan regresi linier	y = 0,0305x + 12,5913 r = 0,9947 IC ₅₀ = 1227,20		
IC ₅₀	1339,70						

2. Media Pertumbuhan NFI 2

Konsentrasi (µg/mL)	Ulangan 1			Konsentrasi (µg/mL)	Ulangan 2		
	Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi		Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi
540	0,277	0,270	2,53	650	0,277	0,272	1,81
810		0,253	8,66	945		0,266	3,97
2700		0,165	40,43	2850		0,154	44,40
5400		0,077	72,20	5700		0,054	80,51
Persamaan regresi linier	y = 0,0143x - 2,7294 r = 0,9948 IC ₅₀ = 3695,87			Persamaan regresi linier	y = 0,0160x - 7,8682 r = 0,9924 IC ₅₀ = 3620,36		
IC ₅₀	3658,12						

3. Media Pertumbuhan NFI 3

Konsentrasi (µg/mL)	Ulangan 1			Konsentrasi (µg/mL)	Ulangan 2		
	Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi		Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi
6720	0,277	0,249	10,11	7795	0,277	0,238	14,08
13440		0,208	24,91	1590		0,206	25,63
33595		0,165	40,43	38970		0,148	46,57
67190		0,082	70,40	77935		0,073	73,65
Persamaan regresi linier	y = 0,0009x + 8,0156 r = 0,9906 IC ₅₀ = 44624,62			Persamaan regresi linier	y = 0,0008x + 11,0535 r = 0,9930 IC ₅₀ = 47215,60		
IC ₅₀	45920,11						

4. Media Pertumbuhan F/2 kontrol

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Ulangan 1			Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Ulangan 2		
	Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi		Abs blanko	Abs sampel	%Inhibisi
600	0,277	0,272	1,81	700	0,277	0,268	3,25
850		0,262	5,42	900		0,255	7,94
2500		0,162	41,52	2750		0,154	44,40
5500		0,051	81,59	5850		0,054	80,51
Persamaan regresi linier	$y = 0,0164x - 6,1804$ $r = 0,9928$ $IC_{50} = 3424,16$			Persamaan regresi linier	$y = 0,0150x - 4,1214$ $r = 0,9904$ $IC_{50} = 3617,87$		
IC_{50}	3521,01						