

POTENSI PIGMEN KAROTENOID BAKTERI SIMBION LAMUN *THALASSIA HEMPRICHII* SEBAGAI SUMBER SENYAWA ANTIOKSIDAN ALAMI

Rr Citra Permata, Ocky Karna Radjasa

Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Sudarto, SH Tembalang Semarang

Abstrak

Pigmen karotenoid yang diproduksi oleh bakteri simbion lamun *Thalassia hemprichii* berhasil diisolasi berasal dari perairan Teluk Awur, Jepara. Pigmen karotenoid merupakan pigmen berwarna merah, orange dan kuning yang disinyalir memiliki fungsi sebagai antioksidan. Isolat bakteri pigmen karotenoid berjumlah 5 isolat yaitu TH1, TH4, TH6, TH18 dan TH20 namun hanya 1 isolat yang mempunyai warna terkuat yaitu isolat dengan kode TH1. Isolate TH1 kemudian diuji DPPH untuk mengetahui kadar antioksidannya. Dari hasil uji DPPH didapatkan kadar antioksidan dengan persen penghambatan 31,11 %.

Kata kunci: Pigmen karotenoid, Bakteri Simbion *Thalassia hemprichii*, Uji DPPH, Antioksidan

Pendahuluan

Lamun merupakan ekosistem penting di laut bersama dengan ekosistem mangrove dan terumbu karang. Dari penelitian terdahulu diketahui bahwa lamun *Thalassia hemprichii* (Putri, 2011) memiliki aktivitas antioksidan. Antioksidan adalah substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan terhadap sel normal, protein, dan lemak. Pemanfaatan lamun secara langsung untuk mencari senyawa antioksidan tentu membutuhkan jumlah lamun yang tidak sedikit, hal ini akan mempengaruhi ketersediaan lamun di alam sehingga dapat merusak ekosistem di laut. Karotenoid merupakan pigmen alami yang umum disintesis oleh mikroorganisme seperti bakteri laut, salah satu fungsi pigmen karotenoid adalah sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan memanfaatkan potensi pigmen karotenoid bakteri simbion lamun *Thalassia hemprichii* sebagai sumber senyawa antioksidan alami serta ramah lingkungan.

Dasar Teori dan Metode

2.1 Koleksi Sampel dan Isolasi Bakteri

Lamun *Thalassia hemprichii* diambil dari perairan Teluk Awur, Jepara dengan kedalaman 50cm dengan pisau kemudian dimasukkan dalam plastic ziplock berisi air laut dan ditempatkan dalam coolbox berisi es batu. Pengukuran parameter perairan menggunakan water quality checker. Sampel kemudian dicuci dengan air laut

steril dan disemprot dengan alcohol lalu dibelah dan dimasukkan dalam air laut steril untuk pengenceran. Seri pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-5} ditanam dalam media zobell double strength kemudian diinkubasi selama 2 minggu untuk mendapatkan bakteri pigmen.

2.2 Pemurnian Bakteri

Bakteri dimurnikan berdasarkan warna yang teridentifikasi sebagai pigmen karotenoid yaitu warna bakteri berwarna kuning, orange dan merah muda serta berdasarkan bentuk dan koloni dalam media miring dalam tabung reaksi dengan metode goresan (Radjasa et al, 2003) dan diinkubasi selama 2 minggu. Bakteri stok yang sudah murni dipindahkan dalam media cair sebanyak 60ml kemudian disheaker selama 3x24 jam. Sebanyak 60ml bakteri dalam media cair kemudian dipindahkan dalam 140ml media cair baru kemudian disheaker kembali selama 3 hari.

2.3 Ekstraksi Pigmen Bakteri

Hasil kultur bakteri kemudian disentrifuge dengan kecepatan 5000rpm selama 15 menit untuk mendapatkan natan dan supernatant. Supernatant kemudian dibuang, natan ditambahkan dengan PBS hingga volume 5ml. setelah itu divortex agar kembali homogen dan dispektro pada panjang gelombang 600nm untuk mendapatkan absorbansi dari bakteri tersebut. Pigmen bakteri dimaserasi dengan aseton : methanol dengan perbandingan 3 : 7 sebanyak 4 ml dan diinkubasi selama satu hari.

2.4 Uji DPPH

Hasil maserasi disentrifuge dengan kecepatan 5000rpm selama 15 menit hingga didapatkan natan dan supernatant. Natan dibuang kemudian supernatant digunakan untuk uji DPPH. Larutan sampel terdiri dari 1ml sampel dan 4ml DPPH 0,1 mM DPPH, kontrol positif yaitu 1ml aseton methanol ditambah 4ml DPPH serta larutan blanko berupa 1ml aseton methanol dan 4ml methanol kemudian diinkubasi selama 30 menit dan absorbansinya diukur pada panjang gelombang 516nm menggunakan spektrofotometer uv vis.

$$\% \text{ penghambatan} = \frac{[DPPH]_o - [DPPH]_s}{[DPPH]_o} \times 100 \%$$

[DPPH]_o = Konsentrasi DPPH awal
[DPPH]_s = Konsentrasi DPPH akhir yang tersisa

Gambar 1. Rumus aktivitas penghambatan

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Sampling dan Isolasi Bakteri Simbion

Thalassia hemprichii sebanyak 10gram yang diisolasi dari perairan Teluk Awur, Jepara menghasilkan isolate bakteri sebanyak 21, hanya 5 isolat bakteri yang teridentifikasi memiliki pigmen karotenoid yaitu TH1, TH6, TH4, TH 18 dan TH 20 tetapi dari kelima isolate tersebut hanya TH1 yang memiliki warna terkuat yaitu merah muda.

Tabel 1. Bakteri Simbion Lamun *Thalassia Hemprichii* Pemurnian Bakteri

NO	BENTUK	WARNA	TEKSTUR
TH1	Lonjong tidak beraturan	Pink keputihan	Datar
TH2	Bulat tidak beraturan	Coklat muda pinggiran putih	Cekung
TH3	Bulat tidak beraturan	Coklat sangat muda	Cembung
TH4	Bulat	Orange muda	Cembung bergerigi
TH5	Bulat	Hijau muda pinggiran putih	Cembung
TH6	Bulat	Orange pekat	Cembung
TH7	Lonjong	Putih bening berinti	Cembung
TH8	Bulat bergerigi	Coklat muda berinti	Cekung
TH9	Bulat	Hijau muda pekat	Cembung
TH10	Bulat	Putih bening berinti	Cekung
TH11	Lonjong	Putih pekat berinti kuning	Cembung
TH12	Tidak beraturan bergerigi	Putih berinti coklat	Cembung
TH13	Tidak beraturan	Putih gading berinti	Cekung
TH14	Tidak beraturan bergerigi	Putih pekat	Kasar
TH15	Bulat bergerigi	Coklat sangat muda	Kasar
TH16	Tidak beraturan	Putih susu	Kasar

TH17	Bulat	Putih pekat	Cembung
TH18	Tidak beraturan bergerigi	Kuning pekat	Cembung
TH19	Bulat	Orange berinti	Cembung
TH20	Bulat	Kuning	Bergerigi
TH21	Tidak beraturan	Pink berinti	Cembung

Bakteri dimurnikan berdasarkan warna yang teridentifikasi serta tekstur dan bentuk bakteri. Dalam tahap ini dimurnikan sebanyak 5 isolat bakteri yaitu TH1, TH6, TH4, TH 18 dan TH 20. Setelah dimurnikan bakteri dikultur dalam media zobell cair untuk menambah biomassa bakteri yang digunakan dalam tahap ekstraksi bakteri.

Kultur bakteri hanya sebatas 200ml mengingat waktu penelitian yang terbatas, dengan jumlah kecil ini belum menghasilkan biomassa bakteri yang diharapkan mengingat minimal volume kultur bakteri seharusnya 1L.



Gambar 2. Isolate bakteri pigmen karotenoid



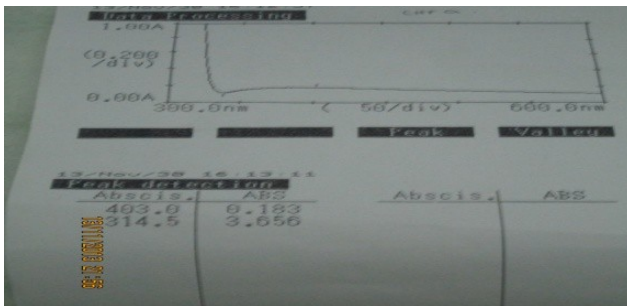
Gambar 3. Kultur bakteri dalam media cair

3.2 Ekstraksi Pigmen Bakteri

Hasil ekstraksi pigmen bakteri dengan pelarut aseton:methanol didapatkan berat basah 4.28 gram. Pada ekstraksi pigmen bakteri menggunakan pelarut aseton:methanol dimana aseton dan methanol adalah pelarut yang mampu memecah kompleks protein-klorofil, ikatan non kovalen dan mengekstraksi pigmen secara kuantitatif. Setelah proses ekstraksi kemudian dilakukan sentrifuge untuk memisahkan natan dan supernatant. Supernatant kemudian digunakan untuk uji DPPH.

Bakteri TH1 mempunyai panjang gelombang 403 nm sesuai dengan kisaran panjang gelombang pigmen karotenoid pada kisaran 300-600 nm (Gross, 1991). Karotenoid dapat berfungsi sebagai quencher singlet oksigen (Krinsky, 1979, 1989; Yanisliewa- Maslarova, 2001; Trilaksani, 2003) sehingga karotenoid dapat mengubah singlet oksigen menjadi triplet oksigen.

Karotenoid yang tereksitasi tersebut akan melepaskan panas kemudian kembali menjadi karotenoid yang stabil. Gordon (1990) mengatakan bahwa antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengikat singlet oksigen dan mengubahnya ke bentuk triplet oksigen. Dari mekanisme kerja antioksidan karotenoid di atas maka karotenoid dapat digolongkan ke dalam antioksidan sekunder.



Gambar 4. Hasil spektro pigmen bakteri TH1

3.3 Uji DPPH

Hasil uji DPPH menunjukkan hasil aktivitas penghambatan sebesar 31,11 % yang didapatkan dari perhitungan absorbansi sampel, kontrol positif berdasarkan rumus aktivitas penghambatan absorbansi kontrol positif 0.09, absorbansi sampel yaitu 0.062. Aktivitas penghambatan ini dipengaruhi oleh biomassa bakteri yang digunakan. Seharusnya jumlah biomassa bakteri yang digunakan minimal 1L, sedangkan pada percobaan ini hanya menggunakan 200ml karena keterbatasan waktu yang diberikan.

No.	ABS	K*AB
1	0.066	0.065
2	0.063	0.062
3	0.058	0.058

Gambar 5. Nilai absorbansi sampel uji DPPH

Abscis.	ABS
516.0	0.090
327.0	0.125

Gambar 6. Nilai absorbansi kontrol positif

4. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa bakteri TH1 mempunyai pigmen karotenoid dengan panjang gelombang 403nm serta memiliki aktivitas penghambatan terhadap radikal bebas sebesar 31,11%. Untuk mendapatkan hasil yang maksimal dibutuhkan jumlah biomassa bakteri minimal 1L.

Referensi

- [1] Gross, J. 1991. *Pigment in Vegetables, Chlorophylls and Carotenoids*. Von Non Strand Reindhold. New York.
- [2] Krinsky, N. I., 1989. *Beta-carotene: Function*. In *New Protective Roles for Selected Nutrients*. G. A. Spiller dan J. Scala, eds. *Alan R. Liss*. New York. Pp. 1-5.
- [3] Krinsky, N. I., 1979. Carotenoids protection against oxidation. *Pure appl. Chem.* (51) : 649-660.
- [4] Putri, A.P., 2011. Kandungan Fenol, Komponen Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Lamun Dugong (*Thalassia hemphrichii*). (Skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor
- [5] Radjasa, O.K., Agus S., Subagyo., Wilis A.S., Agus T dan A. Djunaedi. 2003. Laporan Penelitian : Skrining Organisme Laut Pada Ekosistem Terumbu Karang Penghasil Senyawa Bioaktif. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. UNDIP. Semarang.
- [6] Trilaksani, W., 2003. Antioksidan: Jenis, Sumber,
- [7] Mekanisme Kerja dan Peran terhadap Kesehatan. Term paper. Intoductory Science Phylosophy (PPS702). Graduate Program/S3. Institut Pertanian Bogor.
- [8] Yanishlieva-Maslarova, N. V., 2001. 3: Inhibiting Oxidation. Woodhead Publishing Ltd and CRC Antioxidant in Food Practical application. Woodhead Publishing Ltd and CRC Press LLC