

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Spirulina platensis*

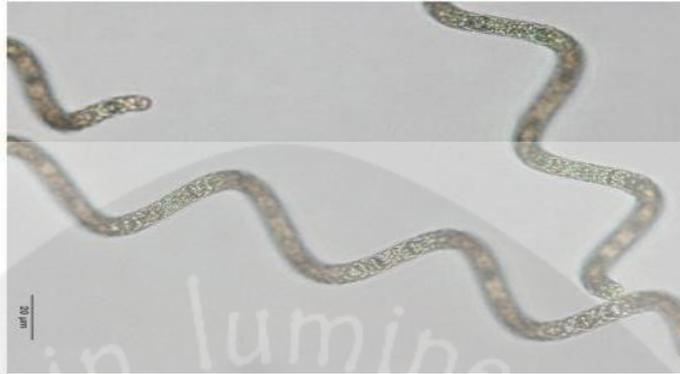
Spirulina adalah mikroalga biru-hijau multiseluler fotosintetik berfilamen (Soundarandian dan Vasanthi, 2008). *Spirulina platensis* di bawah mikroskop tampak seperti benang tipis (filamen) yang berbentuk spiral. Filamen ini merupakan koloni sel yang dapat bersifat motil. Filamen bersel banyak memiliki ukuran panjang 200-300 dan lebar 5-70 mikron. Suatu filament dengan 7 spiral akan mencapai ukuran 1000 mikron dan berisi 250-400 sel (Phang, 2002).

Kandungan gizi menurut Kabinawa dan Inawati, (1993) *Spirulina platensis* terdiri dari protein 60-71 %, karbohidrat 19-20 %, pigmen 6 %, lemak 4-5 %, serat 3 %, abu 3 %, dan mineral 7 %. *S.platensis* adalah jenis mikroalga yang berhabitat di lingkungan *terrestrial*, air tawar, air payau, air asin, hingga danau air asin. Kandungan pH terbaik untuk tumbuh berkisar antara 7,2-9,5 (Isnansetyo dan Kurniastuty, 1995). Berikut merupakan Tabel 1 tentang kedudukan taksonomi *Spirulina platensis* menurut Hirata dkk. (2004) dan Gambar *Spirulina plantesis* yang dapat dilihat Gambar 1.

Tabel 1. Kedudukan taksonomi *Spirulina platensis*

Divisi	Chyanophyta
Kelas	Chyanophyta
Ordo	Nostocates
Famili	Oscillatoriceae
Marga	Spirulina
Jenis	<i>Spirulina platensis</i>

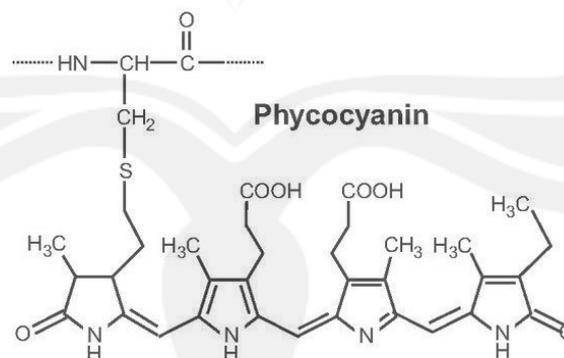
Sumber : Hirata dkk. (2004)



Gambar 1. *Spirulina platensis* (Small, 2012)

B. Fikosianin

Menurut Hirata dkk., (2004) pigmen fikobiliprotein pada spirulina terdiri dari pigmen fikosianin dan allofikosianin. Spirulina lebih dominan akan pigmen fikosianin sehingga digolongkan sebagai mikroalga biru-hijau. Fikosianin terdiri dari protein dan bilin (tetrapirrol terbuka) dan memiliki rumus molekul $C_{33}H_{40}N_4O_6$ dan bobot molekul 587 kDa serta serapan maksimum pada 620 nm. Gambar 2 merupakan struktur kimia dari fikosianin.



Gambar 2. Struktur Kimia Fikosianin (Zheng dkk., 2011)

Sebagian besar dari mikroalga memiliki kemampuan untuk bertahan terhadap lingkungan dengan salinitas tinggi. Untuk menghadapi stres tersebut, sel beradaptasi dengan mekanisme perkembangan biosintesis. Menurut Parida

dan Das (2005) adaptasi terhadap stres berhubungan dengan akumulasi dari sintesis metabolit osmotik aktif, protein spesifik, dan penangkal radikal bebas yang mengontrol masuknya ion dan air. Menurut Moradi dan Ismail (2007), pada lingkungan dengan salinitas yang tinggi, klorofil menjadi target utama dalam proses reduksi. Sementara itu, komposisi dari fikosianin memiliki ketahanan yang baik pada salinitas tinggi.

Produksi pigmen fikosianin juga dipengaruhi oleh adanya kemampuan mikroalga dalam menghadapi *light stress*. Menurut Lee (2001) alga yang hidup pada habitat dengan radiasi matahari tinggi memiliki aksesori berupa pigmen yang melindunginya dari kerusakan radiasi dan oksidasi. Menurut Gualtieri dan Barsanti (2006) ketergantungan pada cahaya merupakan aspek penting dalam fotosintesis, namun di sisi lain adanya *light stress* dapat mengakibatkan *photoinhibition* atau pertumbuhan yang terbatas. Alga memiliki sistem yang memungkinkan untuk mengubah karakteristik penyerapan cahaya untuk mengatur jalannya proses fotosintesis berdasarkan ketersediaan cahaya pada lingkungan yang berbeda. Sebagai konsekuensi dari fenomena ini, pigmen yang menyerap panjang gelombang paling kuat menjadi dominan.

Fikosianin merupakan pigmen yang berasosiasi dengan protein dan bersifat polar serta larut air, sehingga dapat diekstrak dengan menggunakan pelarut air atau buffer (Masojidek, 2004). Kandungan fikosianin pada *Spirulina* sp. berkisar 1-10% berat kering (Sedjati, 2012). Sumber lain menurut Henrikson (2000) menyebutkan kandungan fikosianin dalam 10 g *Spirulina* sp. kering sebesar 1400 mg atau sekitar 14%. Berdasarkan penelitian

oleh Romay dkk, (1998), fikosianin dapat menangkap radikal bebas oksigen dan dapat bereaksi dengan antioksidan lain seperti HOCl^- dan ONOO^- . Menurut Hirata (2004), walaupun telah melalui proses pengeringan dengan metode *spray dry*-pun, aktivitas antioksidan fikosianin tetap sama seperti halnya ekstrak fikosianin dari Spirulina segar.

C. Ekstraksi *cold maseration* dan *freezing-thawing*

Prinsip dasar ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non-polar dalam pelarut non-polar. Serbuk diekstraksi berturut-turut dengan pelarut yang berbeda polaritasnya (Harbone, 1996). Proses ekstraksi merupakan penarikan zat pokok yang diinginkan dari bahan mentah dengan menggunakan pelarut yang dipilih dengan zat yang diinginkan larut (Voight, 1994).

Maserasi menurut Darwis (2000) merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada suhu ruangan. Proses ini menyebabkan isolasi senyawa bahan dengan perendaman sampel tersebut akan terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat adanya tekanan osmosis menyebabkan perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik. Pemilihan pelarut yang sesuai akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alami pelarut tersebut.

Ekstraksi secara dingin (*cold maseration*) prinsipnya tidak memerlukan pemanasan. Hal ini diperuntukan untuk bahan alam yang mengandung komponen kimia yang tidak tahan pemanasan dan bahan alam yang

mempunyai struktur yang lunak (Ditjen POM, 1986). Ekstraksi secara fisik *freezing-thawing* merupakan metode siklus yang paling efisien dalam mengekstrak fikosianin dari biomassa *cyanobacteria*. Siklus dilakukan berulang dengan pembekuan pada -25 hingga -15° C, lalu dicairkan hingga 4-30° C (Abalde, 1998). Menurut Ridlo dkk. (2015) proses pembekuan dan pencairan masing-masing dilakukan selama 12 jam, dan siklus dilakukan sebanyak 2 kali.

Menurut Salama dkk. (2015) dampak dari adanya proses *freezing* adalah terjadinya pembengkakan sel dan kerusakan sel yang disebabkan oleh pembentukan kristal tajam yang terbentuk selama pembekuan. Langkah berikutnya dengan proses *thawing* akan menyebabkan kontraksi seluler akibat tertusuknya sel akibat terbentuknya kristal tajam tersebut, sehingga akan terjadi kebocoran sel yang mengakibatkan keluarnya pigmen selular. Perulangan dalam siklus ini wajib dilakukan agar tidak ada pigmen yang tertinggal dalam sel.

D. Radikal Bebas

Radikal bebas merupakan senyawa yang mengandung elektron tidak berpasangan yang bertindak sebagai akseptor elektron dan bersifat berbahaya karena sangat reaktif mencari pasangan elektronnya. Radikal bebas yang terbentuk dalam tubuh akan menghasilkan senyawa radikal bebas yang baru melalui reaksi berantai (Connor dkk., 2002). Menurut Droge (2002), produksi radikal tersebut dapat mengganggu produksi lapisan lipid pada dinding sel, mempengaruhi pembuluh darah, dan produksi prostaglandin. Radikal bebas

dijumpai dari asap rokok, polusi udara, obat, bahan beracun, bahan adiktif, dan sinar ultraviolet dari matahari maupun radiasi. Tubuh membutuhkan antioksidan yang dapat mengubah sifat radikal tersebut menjadi nonradikal, sehingga tidak terjadi reaksi dengan molekul lain.

E. Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa-senyawa yang keberadaannya mengganggu reaksi rantai radikal bebas seperti halnya dalam reaksi oksidasi lipida. Suatu senyawa dapat digunakan sebagai antioksidan harus memiliki sifat : tidak toksik, efektif pada konsentrasi rendah (0,01-0,02%), dapat terkonsentrasi pada permukaan/lapisan lemak (bersifat lipofilik) dan harus tahan pada kondisi pengolahan pangan umumnya (Praja, 2015).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, antioksidan dibagi menjadi 3 kelompok, yaitu antioksidan primer, sekunder, dan tersier. Antioksidan primer disebut juga antioksidan enzimatis. Suatu senyawa dapat digolongkan sebagai antioksidan primer apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat terhadap senyawa radikal, sehingga radikal antioksidan yang terbentuk akan berubah menjadi senyawa yang lebih stabil yang kurang reaktif. Adanya hal tersebut akan memutus reaksi berantai (polimerisasi), yang mana proses ini juga disebut sebagai *chain breaking antioxidant* (Winarsi, 2007).

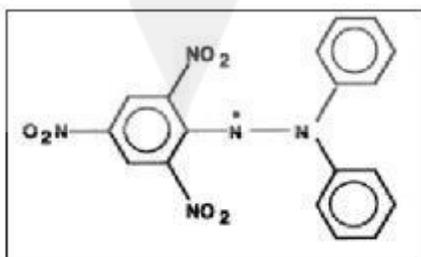
Menurut Winarsi (2007) antioksidan sekunder disebut juga sebagai antioksidan non enzimatis. Penghambatan radikal bebas dilakukan dengan cara pengkelatan metal, atau dirusak pembentukannya. Adanya hal tersebut mengakibatkan pemotongan reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas dengan

cara menangkap radikal bebas tersebut (*free radical scavenger*), kemudian mencegah reaktivitas amplifikasinya. Antioksidan tersier meliputi sistem enzim DNA repair dan metionin sulfuksida reduktase. Enzim tersebut berfungsi dalam perbaikan biomolekuler yang rusak akibat reaktivitas radikal bebas.

F. Aktivitas Antioksidan dan Inhibitory Concentration 50 (IC₅₀)

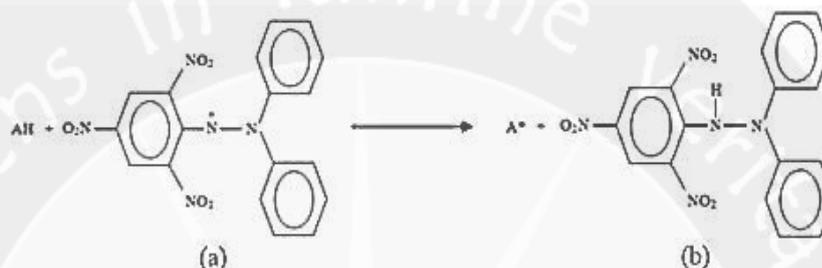
Aktivitas antioksidan menurut Damayanti (2004) dapat dideteksi menggunakan beberapa metode, salah satunya adalah metode transfer elektron menggunakan radikal (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) DPPH. Menurut Hanani (2005) metode DPPH juga menjadi pertimbangan dikarenakan metodenya yang sederhana, mudah, dan menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit dengan waktu yang singkat. Prinsip metode ini adalah mengukur daya peredaman ekstrak suatu bahan terhadap radikal bebas DPPH.

Suatu senyawa dikatakan memiliki aktivitas antioksidan apabila senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu menjadi kuning pucat (Molyneux, 2004). DPPH memiliki serapan yang kuat pada panjang gelombang 517 nm dalam bentuk teroksidasi (Masuda, 1999). Struktur kimia akan ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Struktur kimia DPPH Stabil (Molyneux, 2004)

Radikal bebas peka terhadap cahaya dan oksigen. Akan tetapi, bersifat stabil dalam bentuk radikal, sehingga memungkinkan dalam pengukuran senyawa antioksidan (Molyneux, 2004). Reaksi DPPH yang menangkap atom hidrogen dari komponen aktif ekstrak, hingga menjadi bentuk reduksinya ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Reaksi DPPH : (a) DPPH radikal (ungu), (b) DPPH bentuk tereduksi stabil (kuning) (Molyneux, 2004)

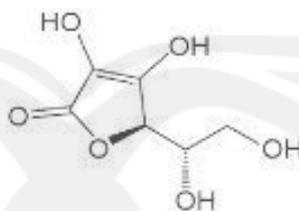
Uji DPPH dilakukan untuk mengetahui nilai hambat ekstrak yang berpotensi sebagai antioksidan. IC_{50} fikosianin diamati dengan melihat nilai persentase inhibisi absorbansi fikosianin pada tiap seri konsentrasi dibandingkan dengan larutan standar, kemudian dihitung dengan menggunakan analisis regresi linier sederhana (Ridlo dkk., 2015).

Parameter yang umum digunakan untuk menginterpretasikan hasil pengujian DPPH adalah nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} digunakan untuk menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal sebesar 50%. Persamaan regresi linear yang diperoleh digunakan untuk mencari nilai IC_{50} dari masing-masing sampel dengan menyatakan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC_{50} (Salamah dkk., 2011). Menurut Bios (1958) dalam Molyneux (2004), suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan yang sangat kuat apabila memiliki nilai nilai IC_{50} kurang

dari 50 ppm, dikategorikan kuat apabila memiliki nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 ppm, sedang apabila nilai IC_{50} 100-150 ppm, dan lemah bila berkisar antara 150-200 ppm.

G. Vitamin C

Secara biokimia Vitamin C (asam askorbat) adalah senyawa dengan rumus $C_6H_8O_6$ dengan struktur cincin lakton 6-karbon yang dapat disintesa dari glukosa dalam hati hewan mamalia pada umumnya, tetapi tidak pada manusia, primata, dan *guinea pig*. Spesies ini dalam hatinya tidak memiliki kemampuan untuk mensintesis enzim *Gulonolakton oksidase* (Wijaya, 2014). Nama kimia dari asam askorbat adalah 2-oxo-L-threo-hexono-1,4- lactone-2,3-enediol. Bentuk utama dari asam askorbat yang dinamakan adalah L-ascorbic dan dehydroascorbic acid (Naidu, 2003). Gambar 5 berikut merupakan struktur kimia dari asam askorbat.



Gambar 5. Struktur Kimia dari Asam Askorbat (McNeil dkk., 2013)

L-asam askorbat termasuk senyawa yang mudah larut, mempunyai sifat asam dan memiliki sifat reduktor yang kuat. Sifat ini disebabkan oleh struktur enediol dengan gugus karbonil membentuk cincin lakton. Vitamin ini sangat sensitif mengalami degradasi yang disebabkan oleh faktor temperatur, konsentrasi garam, konsentrasi gula, pH, oksigen, enzim, katalis, logam,

konsentrasi awal, dan ratio antara konsentrasi asam askorbat dengan asam dehidroasam askorbat (Tannenbaum dkk., 1985).

Vitamin C adalah elektron donor (pemberi elektron) sehingga dapat disebut sebagai antioksidan. Vitamin C sebagai pemberi elektron, juga ini berarti sebagai agen reduktor yang berasal dari sifat ikatan ganda antara C-2 dan C-3 dari cincin lakton 6-karbon tersebut. Vitamin C dapat mencegah senyawa-senyawa lain mengalami oksidasi. Secara alamiah vitamin C itu sendiri yang mengalami oksidasi (Padayatty dkk., 2003).

H. Lumpia

Lumpia berasal dari kata *lun bing*, dalam dialek Hokkian berbunyi *lun pia* yang berarti kue bulat. Lumpia di Tiongkok disebut dengan *chun juan* (baca: ju-en cuen), *Chun* berarti musim semi dan *juan* berarti menggulung. Secara harfiah dalam bahasa Inggris menjadi *spring roll* kemudian diakui secara internasional makanan yang digulung dan berbentuk bulat panjang ini disebut dengan *spring roll* (Bromokusumu, 2013).

Lumpia adalah kudapan yang sudah tidak asing kuliner khas dari Semarang yang dibuat dari lembaran tipis tepung gandum yang dijadikan kulit. Kulit ini digunakan sebagai pembungkus isian yang biasanya terdiri dari rebung, telur, sayuran segar, daging, maupun makanan laut (Sufi, 2006). Produk lumpia akan ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 6. Lumpia Goreng (kiri), B. Lumpia Basah (kanan)
(Cahya, 2013)

I. Hipotesis

1. Kulit lumpia yang berkualitas baik, memiliki kadar fikosianin, persen penghambatan dan nilai IC_{50} terendah didapatkan pada substitusi bubuk *Spirulina platensis* yang memiliki konsentrasi paling tinggi.