

TESIS

**BIOAKTIVITAS EKSTRAK POLISAKARIDA DARI
KONSORSIUM MIKROALGA *STRAIN* GLAGAH
DAN MIKROALGA *Spirulina platensis* SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh:

ZHAZA AFILILLA
061824253004

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

TESIS

**BIOAKTIVITAS EKSTRAK POLISAKARIDA DARI
KONSORSIUM MIKROALGA *STRAIN* GLAGAH
DAN MIKROALGA *Spirulina platensis* SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS



Oleh:

ZHAZA AFILILLA
061824253004

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

**BIOAKTIVITAS EKSTRAK POLISAKARIDA DARI
KONSORSIUM MIKROALGA *STRAIN* GLAGAH
DAN MIKROALGA *Spirulina platensis* SEBAGAI
IMUNOSTIMULAN**

PENELITIAN EKSPERIMENTAL LABORATORIS

TESIS

**untuk memperoleh gelar Magister dalam Program Studi
Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
pada Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Surabaya**

**ZHAZA AFILILLA
NIM 06124253004**

**PROGRAM STUDI MAGISTER
ILMU PENYAKIT DAN KESEHATAN MASYARAKAT VETERINER
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2022**

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Tesis berjudul:

**Bioaktivitas Ekstrak Polisakarida dari Konsorsium Mikroalga *Strain*
Glagah dan Mikroalga *Spirulina platensis* sebagai Imunostimulan**

tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar Magister di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surabaya, 19 Mei 2022



Zhaza Afililla

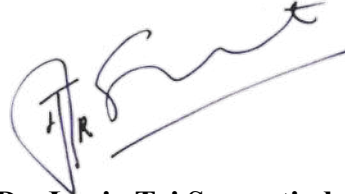
NIM 061824253004

LEMBAR PENGESAHAN

TESIS INI TELAH DISETUJUI
Tanggal 19 Mei 2022

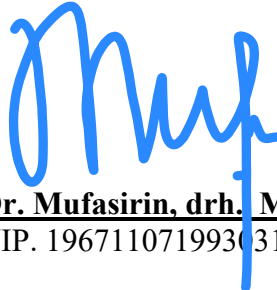
Oleh:

Pembimbing Ketua



Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP.
NIP. 196208281989032001

Pembimbing



Dr. Mufasirin, drh. M.Si.
NIP. 196711071993031003

Mengetahui,
Ketua Program Studi Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga



Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, drh., M.Kes.
NIP. 196403161990022001

Usulan Penelitian Tesis ini telah diuji dan dinilai pada
Tanggal: 4 Januari 2021

PANITIA PENGUJI USULAN PENELITIAN TESIS

Ketua : Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si.
Anggota : 1. Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP.
2. Dr. Mufasirin, drh., M.Si.
3. Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes.
4. Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Tesis ini telah diuji dan dinilai pada

Tanggal: 12 Mei 2022

PANITIA PENGUJI TESIS

Ketua : Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si.
Anggota : 1. Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., MP.
2. Dr. Mufasirin, drh., M.Si.
3. Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes.
4. Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes.

Surabaya, 24 Mei 2022
Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Airlangga
Dekan,



Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., MP.
NIP. 19620118199203200

UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, puji syukur atas rahmat serta hidayah Allah SWT, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan tesis dengan judul “**BIOAKTIVITAS EKSTRAK POLISAKARIDA DARI KONSORSIUM MIKROALGA STRAIN GLAGAH DAN *Spirulina platensis* SEBAGAI IMUNOSTIMULAN**”.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

Dekan Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga Prof. Dr. Mirni Lamid, drh., M.P., dan Ketua Program Studi S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner, Dr. Eka Pramyrtha Hestianah, drh., M.Kes., atas kesempatan mengikuti Pendidikan di Program Studi S2 Ilmu Penyakit dan Kesehatan Masyarakat Veteriner di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Prof. Dr. Lucia Tri Suwanti, drh., M.P. dan Dr. Mufasirin, drh., M.Si., selaku pembimbing atas segala saran, bimbingan dan motivasinya, sehingga penulis mampu menyelesaikan penulisan dan penyusunan Tesis ini dengan baik.

Riset Kolaborasi Indonesia (RKI) yang mendanai secara penuh biaya penelitian ini.

Prof. Dr. Suwarno, drh., M.Si., selaku Ketua Penilai, Dr. Wiwiek Tyasningsih, drh., M.Kes., selaku Sekretaris Penilai dan Dr. Hani Plumeriastuti, drh., M.Kes., selaku Anggota Penilai atas kesediaan serta waktunya untuk menguji, menilai dan memberikan saran pada Tesis ini.

Seluruh Staf Pengajar Program Studi S2 IPKMV Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga atas wawasan keilmuan selama mengikuti Pendidikan Magister di Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga.

Drs. Zen Kostolani, M.Si., dan Ir. Luluk Estrihawati, selaku kedua orangtua penulis yang tidak pernah berhenti memberikan doa, dukungan, motivasi serta kasih sayang yang tidak terhingga kepada penulis.

Dica Rasyid Maulidhani, S.T., selaku suami penulis yang selalu memberikan doa, dukungan dan motivasi kepada penulis. Serta adik-adik penulis, Zulfan Aufifillah dan Zieaf Aufafawwaz yang selalu memberikan dukungan kepada penulis.

Rekan satu penelitian Mahendra Pujiyanto, drh., M.Si., sahabat-sahabat penulis, Malika Ulin, drh., Citrasari Henra P., drh., Ribby Ansharieta, drh., M.Si., Tantri Dyah W.P., drh., M.Si., Elly Nurindah Sari, S.KH., M.Si., Farah Fannisa, drh., M.Si, Milla Nusadida, drh., M.Si, Dyah Ayu K., drh. M.Si., dan lainnya yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas kerjasama, bantuan, semangat, serta doa dalam penelitian dan penulisan tesis ini.

Penulis menyadari bahwa masih banyak terdapat kekurangan dan kesalahan dalam penulisan tesis ini sehingga saran dan kritik yang membangun sangat dibutuhkan demi kesempurnaan penyusunan selanjutnya. Semoga tesis ini dapat dijadikan referensi dan menambah pengetahuan bagi yang membacanya. Aamiin.

Surabaya, 12 Mei 2022

Penulis

RINGKASAN

Bioaktivitas Ekstrak Polisakarida dari Konsorsium Mikroalga *Strain* Glagah dan Mikroalga *Spirulina Platensis* sebagai Imunostimulan

Mikroalga merupakan salah satu kelompok mikroorganisme fotosintetik di wilayah perairan laut. Biomassa dari mikroalga dianggap 10 kali lebih efisien dibandingkan dengan tumbuhan pada umumnya. Pada perairan laut di wilayah Pantai Glagah, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta (DIY), telah ditemukan konsorsium (komunitas mikroorganisme) mikroalga *strain* Glagah. Penelitian terkait konsorsium mikroalga Glagah di Indonesia yang sudah ada sejauh ini adalah tentang potensi mikroalga sebagai produsen *biofuel*. Komponen bioaktif lain dari konsorsium mikroalga Glagah belum pernah diteliti sebelumnya di Indonesia, terutama bioaktivitas dari komponen polisakarida.

Komponen bioaktif mikroalga meliputi, pigmen, hidrogen, lipid, hidrokarbon, karbohidrat, vitamin, protein hingga polisakarida. Polisakarida termasuk biomakromolekul yang terdapat pada struktur dinding sel dari mikroalga, selama beberapa tahun terakhir menjadi daya tarik dalam bidang farmaseutikal khususnya pada aktivitas imunomodulator dan antioksidan. Salah satu mikroalga yang luas penggunaannya, baik dari segi kesehatan hingga untuk dikonsumsi adalah *Spirulina platensis*. Mikroalga *S. platensis* diketahui mampu meningkatkan respon imun seluler dan juga sebagai antioksidan. Polisakarida mikroalga *S. platensis* (PSP) dapat dijadikan sebagai pembanding terhadap polisakarida dari konsorsium mikroalga Glagah (PKG).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui dan menganalisa aktivitas biologis dari PKG sebagai imunostimulan dan antioksidan, dibandingkan dengan PSP. Polisakarida didapat dengan metode ekstraksi air panas dalam keadaan alkali (*lye extraction method*). Nilai kadar ekstraksi adalah perbandingan dari berat kering polisakarida dengan berat kering mikroalga. Nilai total karbohidrat dari ekstrak PKG dan PSP dianalisa menggunakan metode *phenol sulphuric acid*, sementara protein dengan metode Bradford. Aktivitas antioksidan dari PKG dan PSP diperiksa menggunakan uji *free radical scavenging activity* dengan DPPH. Proliferasi sel splenosit, menggunakan sel splenosit dari organ lien dari mencit sehat, kemudian dicuci dengan RPMI 1640, lalu dikultur dalam *microplate* dengan medium RPMI 1640, kepadatannya 3×10^5 sel per 100 μ l tiap sumuran. PKG dan PSP ditambahkan ke tiap sumuran dengan dosis bertingkat 0; 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 dan 20 mg/ml. Lalu dilanjutkan deteksi sitokin IFN- γ dan TNF- α menggunakan ELISA. Selain itu dilakukan uji MTT untuk menilai aktivitas proliferasi dari sel splenosit setelah dilakukan pemberian PKG dan PSP.

Pada penelitian ini didapatkan serbuk kering polisakarida PKG dan PSP, *extraction rate* dari PKG adalah 5,475% dan PSP sebesar 6,35%. Kemudian

kandungan karbohidrat yang didapatkan pada ekstrak PKG sebesar 1,2 mg/ml, sedangkan PSP 13,33 mg/ml. Adapun kandungan protein yang diperoleh adalah 2,23 mg/ml pada ekstrak PKG dan 0,67 pada ekstrak PSP. Nilai aktivitas antioksidan pada dosis ekstrak tertinggi 200 µg/ml, didapati bahwa ekstrak PKG nilainya lebih tinggi (55,65%) dari ekstrak PSP. Hasil hitung IC₅₀ menunjukkan ekstrak PKG diketahui memiliki aktivitas antioksidan sedang dengan nilai 125,21 µg/ml, sedangkan ekstrak PSP menunjukkan aktivitas antioksidan rendah dengan nilai IC₅₀ sebesar 171,82 µg/ml.

Hasil uji proliferasi sel splenosit dari kedua ekstrak, dengan pemberian ConA sebagai mitogen menunjukkan pada ekstrak PKG terjadi interaksi antara pemberian ConA dengan dosis polisakarida ($p < 0,05$). Nilai proliferasi sel dari pemberian ekstrak PKG dosis tertinggi (20 mg/ml) mencapai 123,64% pada penambahan ConA dan 117,7% tanpa penambahan ConA. Pada ekstrak PSP juga terjadi interaksi antara pemberian ConA dengan dosis polisakarida ($p > 0,05$). Nilai proliferasi sel dari PSP pada dosis ekstrak polisakarida tertinggi (20 mg/ml) mencapai 129,2% (dengan penambahan ConA), dan 128,0% (tanpa penambahan ConA).

Pada deteksi produksi sitokin menggunakan uji ELISA, ekstrak PKG dengan dosis 0,625; 2,5 dan 20 mg/ml mampu bertindak sebagai imunostimulan karena dapat meningkatkan produksi sitokin TNF- α , melampaui nilai konsentrasi pada Kontrol dan ConA dengan perlakuan ConA (-). Ekstrak PKG dengan dosis 5 mg/ml, baik pada perlakuan ConA (+) maupun ConA (-), nilai konsentrasi TNF- α masih belum dapat melampaui nilai Kontrol dan ConA; dinyatakan memiliki aktivitas immunosupresif. Sementara efek pemberian ekstrak PSP terhadap TNF- α , pada dosis ekstrak PSP 1,25; 2,5 dan 10 menunjukkan aktivitas immunosupresif karena lebih rendah terhadap nilai Kontrol dan ConA. Pada perlakuan dengan ConA (+) dosis ekstrak PSP 1,25 dan 10, mampu mendukung aktivitas imunostimulan. Efek ekstrak PKG terhadap produksi sitokin IFN- γ , menunjukkan bahwa pada dosis ekstrak PKG 0,625 dan 10 mg/ml dengan ConA (-) mampu menunjukkan aktivitas imunostimulan dengan meningkatkan konsentrasi sitokin dibandingkan nilai konsentrasi pada Kontrol dan ConA. Pada dosis ekstrak PKG 0,625 dan 5 mg/ml, perlakuan ConA (+) mampu mendukung aktivitas imunostimulan dengan meningkatkan konsentrasi IFN- γ . Sementara pada ekstrak PSP, hanya dosis 0,625 dengan ConA (+) yang mampu meningkatkan produksi sitokin terhadap Kontrol dan ConA.

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak PKG dan PSP mampu meningkatkan presentase sel secara signifikan, khususnya pada dosis ekstrak 20 mg/ml. Produksi sitokin TNF- α dan IFN- γ dengan uji ELISA didapati ekstrak PKG bersifat sebagai imunostimulan dengan dosis rendah, sementara pada dosis tinggi bersifat immunosupresif. Hal yang sama juga ditunjukkan ekstrak PSP. Peningkatan proliferasi sel tidak diikuti dengan peningkatan produksi sitokin TNF- α dan IFN- γ . Berdasarkan uji proliferasi sel dan produksi sitokin ekstrak PKG dan PSP dinilai memiliki sifat immunomodulator. Ekstrak PKG dan PSP mampu berperan sebagai antioksidan, dengan nilai aktivitas antioksidan dari ekstrak PKG lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak PSP

SUMMARY

Bioactivity of Polysaccharides Extract from Consortia of Glagah *Strain* Microalgae dan *Spirulina platensis* Microalgae as Immunostimulant

Microalgae are one of the photosynthetic microorganisms in the ocean. Biomass from microalgae is ten times more resourceful than any other plant. On the coast of Glagah Beach, the Special Region of Yogyakarta Province, a consortium of microalgae named consortium Glagah has been discovered. Consortium Glagah in Indonesia has been explored as one of the biofuel sources. Other bioactive components from Consortium Glagah have not been explored before in Indonesia, most importantly the bioactivity from polysaccharides.

Bioactive components from microalgae include pigments, hydrogen, lipid, hydrocarbon, carbohydrate, vitamins, proteins and polysaccharides. Polysaccharides as biomacromolecule placed in cell wall structure of microalgae, have become interest in pharmaceutical, especially in immunomodulator activity and antioxidant. One of microalga which commonly used in medicine and consumable food is *Spirulina platensis*. *Spirulina platensis* microalgae has ability to increase cellular immune responses and act as antioxidant. Polysaccharides of *Spirulina platensis* (PSP) compared with Consortium Glagah's polysaccharides (PKG).

This research aimed to understand and analyze the biological activity of PKG as immunostimulant and antioxidant, compared to PSP. Polysaccharides were extracted with hot water extraction in alkaline condition (lye extraction method). The extraction rate is comparison between microalgae powder and polysaccharides powder. Total carbohydrate value from PKG and PSP extract were analyzed using phenol sulphuric acid method, the protein content were analyzed with Bradford method. Antioxidant activity of PKG and PSP were investigated using free radical scavenging activity DPPH assay. Proliferation of splenocyte cells, used splenocytes from healthy mice's spleen then washed with RPMI-1640 medium, and cultured in microplate with RPMI-1640 medium, the cell density was 3×10^5 / 100 μ l each well. PKG and PSP added to each well with dose increased gradually 0; 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 and 20 mg/ml. Detection of cytokine IFN- γ and TNF- α were done using ELISA. Then cytotoxicity assay or MTT used to examine the metabolic activity of splenocyte after PKG and PSP added to the cells.

In this research, the polysaccharides powder of PKG and PSP were obtained, with extraction rate of PKG was 5,475% and PSP was 6,35%. Total carbohydrate obtained from PKG only 1,2 mg/ml, while PSP 13,33 mg/ml. As for protein, 2,23 mg/ml obtained from PKG and 0,67 mg/ml from PSP. The antioxidant value at the maximum extract's dose 200 μ g/ml, showed PKG was higher (55,65%) than PSP. The value of IC50 also calculated, PKG grouped as intermediate antioxidant

activity, the result was 125,21 µg/ml, while the PSP extract showed low antioxidant activity, the result was 171,82 µg/ml.

Proliferation splenocyte assay from both extracts, which added with ConA as mitogen showed that from PKG extract there were interactions between ConA being added with the dose of polysaccharides ($p < 0,05$). The value of cell proliferation from PKG at highest dose of polysaccharides (20 mg/ml) reached 123,64% combined with ConA and 117,7% without ConA. There was also an interaction from PSP extract between ConA added to the suspension with the dose of polysaccharides ($p < 0,05$). The value of cell proliferation from PSP at highest dose (20 mg/ml) was 129,2% (combined with ConA) and 128,0% without ConA being added.

On detection of cytokines using ELISA, PKG extract with doses 0,625; 2,5 and 20 mg/ml were able to act as immunostimulant because it could increase the production of TNF- α , exceeding the concentration values in Control and ConA with ConA (-) treatment. PKG extract with dose 5 mg/ml, both in treatments with ConA (+) and ConA (-), the TNF- α value still could not exceed the Control and ConA values; shown to have immunosuppressive activity. Meanwhile, the effect of PSP extract on TNF- α with dose of 1,25; 2,5 and 10 showed immunosuppressive activity because they were lower than the Control and ConA values. In the treatment with ConA (+), PSP extract with dose 1,25 and 10 mg/ml were able to support immunostimulant activity. The effect of PKG extract on the production of IFN- γ cytokine, showed that at dose of 0,625 and 10 mg/ml PKG extract with ConA (-) treatment was able to show immunostimulant activity by increasing the concentration of cytokines compared to the concentration values in Control and ConA treatments. At dose of 0,625 PKG extract and 5 mg/ml, ConA (+) treatment was able to support immunostimulant activity by increasing the concentration of IFN- γ . Meanwhile in PSP extract, only dose of 0,625 with ConA (+) treatment was able to increase cytokine production against Control and ConA.

The conclusion of this study was, PKG and PSP extracts were able to significantly increase cell percentage, especially at 20 mg/ml extract. The production of TNF- α and IFN- γ cytokines by ELISA showed that PKG extract was able to act as an immunostimulant at low doses, while at high doses was immunosuppressive. The same goes with PSP extract. The increase in cell proliferation was not followed by the production of TNF- α and IFN- γ cytokines. Based on cell proliferation and cytokine production, PKG and PSP extracts were assessed to have immunomodulatory activity. PKG and PSP extract were able to act as antioxidant, with the value of PKG extract was higher than PSP extract.

ABSTRACT

Microalgae are one of the photosynthetic microorganisms in the ocean. Biomass from microalgae are ten times more resourceful than any other plant. On the coast of Glagah Beach, the Special Region of Yogyakarta Province, a consortium of microalgae named consortium Glagah has been discovered. Consortium Glagah in Indonesia has been explored as one of the biofuel sources. Other bioactive components from Consortium Glagah have not been explored before in Indonesia, most importantly the bioactivity from polysaccharides. In recent discovered microalgae consortium Glagah, the antioxidant and immunostimulant value from its polysaccharides as bioactive component was investigated. This research aimed to understand and analyze the biological activity of PKG (polysaccharides of microalgae consrotium Glagah) as immunostimulant and antioxidant, compared to PSP (polysaccharides of *S. platensis*). Polysaccharides were extracted with hot water extraction in alkaline condition. Next, PKG and PSP extract were analyzed with phenol sulphuric acid to calculate the total carbohydrate and Bradford method to calculate the protein content. Antioxidant activity from PKG and PSP were analyzed with free radical scavenging activity with DPPH. Proliferation of splenocyte from healthy mice's spleen were cultured in microplate with RPMI-1640, the cell density was 3×10^5 /100 μ l each well. PKG and PSP added to each well with dose increased gradually 0; 0,625; 1,25; 2,5; 5; 10 and 20 mg/ml. Detection of cytokine IFN- γ dan TNF- α were done using ELISA. Then MTT assay was used to examine the proliferation activity of splenocyte after PKG and PSP were added to the cells with ConA as mitogen. As result, PKG was able to showed a role as antioxidant and was higher than PSP extract. In proliferation assay, the PKG extract was able to increase the cell viability with or without combination of ConA significantly, especially at the dose of 20 mg/ml polysaccharides. PKG extract was able to act as immunostimulant at low doses, while at high doses PKG extract acted as immunosuppressive. The same goes with PSP extract. The increase in cell proliferation was not followed by the production of TNF- α and IFN- γ cytokines. Based on cell proliferation and cytokine production, PKG and PSP extracts were assessed to have immunomodulatory activity.

Keywords: *polysaccharides, microalgae, immunostimulant, antioxidant*

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL DEPAN.....	i
HALAMAN SAMPUL DALAM	ii
PRASYARAT GELAR.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
PENETAPAN PANITIA PENGUJI	vi
UCAPAN TERIMA KASIH.....	viii
RINGKASAN	x
SUMMARY	xii
ABSTRACT.....	xiv
DAFTAR ISI.....	xv
DAFTAR TABEL.....	xviii
DAFTAR GAMBAR	xix
DAFTAR LAMPIRAN.....	xx
SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG	xxi
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.3.1 Tujuan umum	5
1.3.2 Tujuan khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
1.4.1 Teoritis.....	5
1.4.2 Praktis	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Mikroalga.....	6
2.1.1 Morfologi, ultrastruktur dan pembelahan sel mikroalga	8
2.1.2 Kultivasi mikroalga	9
2.2 Senyawa Penting pada Mikroalga.....	13
2.2.1 Protein	13
2.2.2 Karbohidrat.....	15
2.2.3 Lipid	16
2.2.4 Senyawa penting lain.....	17
2.3 Mikroalga <i>Spirulina platensis</i>	18
2.4 Konsorsium Mikroalga Glagah.....	19
2.4.1 <i>Cyclotella polymorpha</i>	20

2.4.2	<i>Cylindrospermopsis raciborskii</i>	21
2.4.3	<i>Golenkinia radiata</i>	23
2.4.4	<i>Syracosphaera pirus</i>	24
2.4.5	<i>Corethron criophilum</i>	25
2.4.6	<i>Chlamydomonas</i> sp.....	27
2.5	Polisakarida Mikroalga	29
2.5.1	Ekstraksi polisakarida.....	30
2.5.2	Bioaktivitas dan aplikasi dari polisakarida mikroalga	33
2.5.3	Aktivitas antioksidan dari polisakarida mikroalga	34
2.5.4	Aktivitas polisakarida sebagai imunostimulan.....	34
2.5.5	Proliferasi sel splenosit dan produksi sitokin	39
2.5.6	Uji proliferasi sel splenosit secara <i>in vitro</i>	41
2.5.7	Uji ELISA (<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>).....	43
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS		44
3.1	Kerangka Konseptual.....	44
3.2	Hipotesis	47
BAB 4 MATERI DAN METODE		48
4.1	Jenis dan Rancangan Penelitian.....	48
4.2	Populasi dan Besar Sampel.....	48
4.3	Variabel Penelitian.....	49
4.3.1	Variabel bebas	49
4.3.2	Variabel tergantung	49
4.3.3	Definisi operasional.....	49
4.4	Bahan Penelitian	50
4.5	Instrumen Penelitian	51
4.6	Lokasi dan Waktu Penelitian	52
4.7	Prosedur Pengambilan dan Pengumpulan Data	52
4.7.1	Biomassa mikroalga	52
4.7.2	Ekstraksi polisakarida mikroalga	53
4.7.3	Analisis komponen polisakarida	54
4.7.4	Analisis aktivitas antioksidan mikroalga.....	54
4.7.5	Koleksi organ lien dari mencit	54
4.7.6	Isolasi sel splenosit.....	55
4.7.7	Proliferasi sel splenosit dan produksi sitokin	56
4.7.8	Uji proliferasi dengan MTT <i>Assay</i>	56
4.7.9	Uji ELISA.....	56
4.8	Kerangka Operasional.....	58
4.9	Analisis	59

BAB 5 ANALISIS HASIL PENELITIAN	60
5.1 Hasil Ekstraksi Polisakarida	60
5.2 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan.....	61
5.3 Hasil Proliferasi Sel Splenosit	63
5.4 Hasil Uji ELISA terhadap Produksi Sitokin	66
BAB 6 PEMBAHASAN	72
BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN	85
7.1 Kesimpulan	85
7.2 Saran	85
DAFTAR PUSTAKA	86
LAMPIRAN.....	101

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1 Perbandingan komposisi mikroalga dengan bahan pangan lain	15
2.2 Karbohidrat dari spesies mikroalga yang terpilih	16
5.1 Hasil <i>extraction rate</i> , kandungan karbohidrat dan protein dari PSP dan PKG	61
5.2 Nilai % aktivitas antioksidan dari uji DPPH	62
5.3 Nilai IC50 dari ekstrak PKG dan ekstrak PSP	62
5.4 Hasil uji MTT %viabilitas splenosit yang diberikan ekstrak PKG.....	63
5.5 Hasil uji MTT %viabilitas splenosit yang diberikan ekstrak PSP	64
5.6 Pengaruh pemberian ConA dan konsentrasi PKG terhadap nilai absorban.....	65
5.7 Pengaruh pemberian ConA dan konsentrasi PSP terhadap nilai absorban.....	66

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Skema kultivasi mikroalga pada kolam terbuka	11
2.2 Kultivasi mikroalga	12
2.3 Skema fotobiotreaktor	13
2.4 Gambaran mikroskopis mikroalga <i>S. platensis</i>	19
2.5 Morfologi <i>C. polymorpha</i>	21
2.6 Morfologi <i>C. raciborskii</i>	22
2.7 Gambaran mikroskopis sel vegetatif dari <i>G. radiata</i>	24
2.8 Gambaran morfologi dari <i>S. pirus</i>	25
2.9 Gambaran <i>C. criophilum</i> pada <i>scanning electron micrograph</i>	26
2.10 Morfologi <i>Chlamydomonas</i> sp.	27
2.11 Siklus reproduksi seksual dari <i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	28
2.12 Struktur dari polisakarida tersulfasi	30
2.13 Gambaran mikroalga tanpa <i>pre-treatment</i> dan setelah <i>pre-treatment</i>	32
2.14 Skema dari aktivasi sistem imun oleh polisakarida mikroalga	36
2.15 Gambaran struktur dari organ lien mencit	40
2.16 Skema reduksi MTT menjadi kristal formazan	42
5.1 Isolat mikroalga <i>S. platensis</i>	60
5.2 Hasil ekstraksi dari polisakarida mikroalga	61
5.3 Gambaran sel splenosit pada kamar hitung <i>improve Neubauer</i>	63
5.4 Grafik perbandingan efek ekstrak PKG dan ConA terhadap nilai konsentrasi sitokin TNF- α	68
5.5 Grafik perbandingan efek ekstrak PKG dan ConA terhadap nilai konsentrasi sitokin IFN- γ	69
5.6 Efek dari ekstrak PSP terhadap produksi sitokin TNF- α	70
5.7 Efek dari ekstrak PSP terhadap produksi sitokin IFN- γ	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Sertifikat Uji Kelaikan Etik	101
2. Penghitungan Sel Splenosit untuk Uji Proliferasi Sel	102
3. Skema <i>Microplate</i> pada Uji Proliferasi Sel	104
4. Penghitungan Konsentrasi Ekstrak Polisakarida untuk Uji Proliferasi Sel	105
5. Hasil Uji SPSS terhadap Nilai Absorban dari Uji MTT Ekstrak PKG	106
6. Hasil Uji SPSS terhadap Nilai Absorban dari Uji MTT Ekstrak PSP	111
7. Hasil Uji MTT dengan Spektrofotometer 560 nm	116
8. Hasil Uji ELISA untuk Produksi Sitokin TNF- α dengan Menggunakan ELISA <i>reader</i>	117
9. Hasil Uji ELISA untuk Produksi Sitokin IFN- γ dengan Menggunakan ELISA <i>reader</i>	119
10. Dokumentasi	121

SINGKATAN DAN ARTI LAMBANG

DMSO	: Dimetil Sulfoksida
DPPH	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
ELISA	: <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
FBS	: <i>Fetal Bovine Serum</i>
IFN	: Interferon
IL	: Interleukin
MTT Assay	: <i>Methyl Thiazolyl Tetrazolium Assay</i>
NOS	: Nitrit Oksida
PBR	: <i>Photobioreactor</i> / Fotobioreaktor
PKG	: Polisakarida Konsorsium Mikroalga Glagah
PSP	: Polisakarida <i>Spirulina platensis</i>
PUFA	: <i>Poly Unsaturated Fatty Acid</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
RPMI	: <i>Media Roswell Park Memorial Institute</i>
TGA	: Trigliserida
Th	: <i>T helper</i>
TLR	: <i>Toll-like Receptor</i>
TNF	: <i>Tumor Necrosis Factor</i>
ng	: nanogram
µg	: mikrogram
µm	: mikrometer