

Bab 8

Uji *In-vitro* Pemanfaatan Porphyridium

Beberapa jenis alga mampu melakukan sintesa senyawa berguna yang sering dimanfaatkan sebagai bahan aktif dan formulasi kosmetik (BIARD, 1980; HASCOET, 1985; CALAF, 1990; CAMPOS, 1992). Bahan berguna yang berasal dari mikroalga sering berorientasi pada ekstraksi-purifikasi dari senyawa-senyawa, seperti enzim untuk antioksidan, lemak untuk preparasi liposom, asam amino untuk mengatasi hydratasi, alginat dan karagenan untuk sumber karbohidrat, dan pigmen untuk pewarna.

Poprhyridium memiliki sejumlah molekul biologis tertentu yang dapat dimanfaatkan sebagai penyusun bahan kosmetik, seperti polisakarida, asam amino essensial, asam lemak polyinsaturated, dan lain-lain... Produk yang berasal dari bahan dasar mikroalga sering diaplikasikan pada kulit karena berguna untuk memodifikasi kadar kimia dan fisiologis kulit itu sendiri.

Interaksi antara kulit dan ekstrak mikroalga dapat memberi pengaruh positif dan dapat juga bersifat racun bagi jaringan kulit. Model in-vivo dan in-vitro dapat diimplementasikan untuk menguji efek positif atau efek negatif produk mikroalga terhadap jaringan kulit. Uji toksisitas dan aktivitas dari suatu produk lazimnya diuji menggunakan hewan. Belakangan penggunaan hewan sebagai alat uji telah menimbulkan kontroversial pada sisi etika dan saintifik. Penggunaan metoda uji sebagai model pengganti dapat dilakukan antara lain dengan menggunakan model kultur sel.

Dalam bidang dermokosmetik, uji bahan dasar seperti yang berasal dari mikroalga dapat dilakukan dengan menggunakan sel jaringan kulit dermis (fibroblast) tikus galur L929.



8.1. Metoda Uji

Kajian untuk mengetahui potensi *Porphyridium* sebagai dasar bahan kosmetik dilakukan melalui uji *in-vitro* dari liofilisat rhodophyceae ini terhadap sel jaringan kulit dermis (fibroblast) hewan tikus galur L929. Kultur sel jaringan kulit fibroblast diaplikasi pada Media Esensial Minimum Eagle dengan 2 (dua) konsentrasi penambahan serum lembu: 10 % dan 2 %; dan diinkubasi pada temperatur 37 °C serta kelembaban 5 % CO₂. Liofilisat *Porphyridium* uji diproduksi dari kultur menggunakan media F/2 Guillard pada temperatur 20 °C dan 25 °C, fotoperioda 10j/14j, 14j/10j, 18j/6j (jam/jam). Salinitas media kultur untuk *Porphyridium cruentum* : 25 ‰, 31 ‰, 37 ‰; dan untuk *Porphyridium aeruginosum*: 0 ‰, 5 ‰, 10 ‰. Efek *Porphyridium* terhadap pertumbuhan jumlah sel fibroblast diperlakukan dengan penambahan berbagai konsentrasi ekstrak alga: 0, 10, 20, 30 dan 40 µg per mililiter media kultur sel fibroblast.

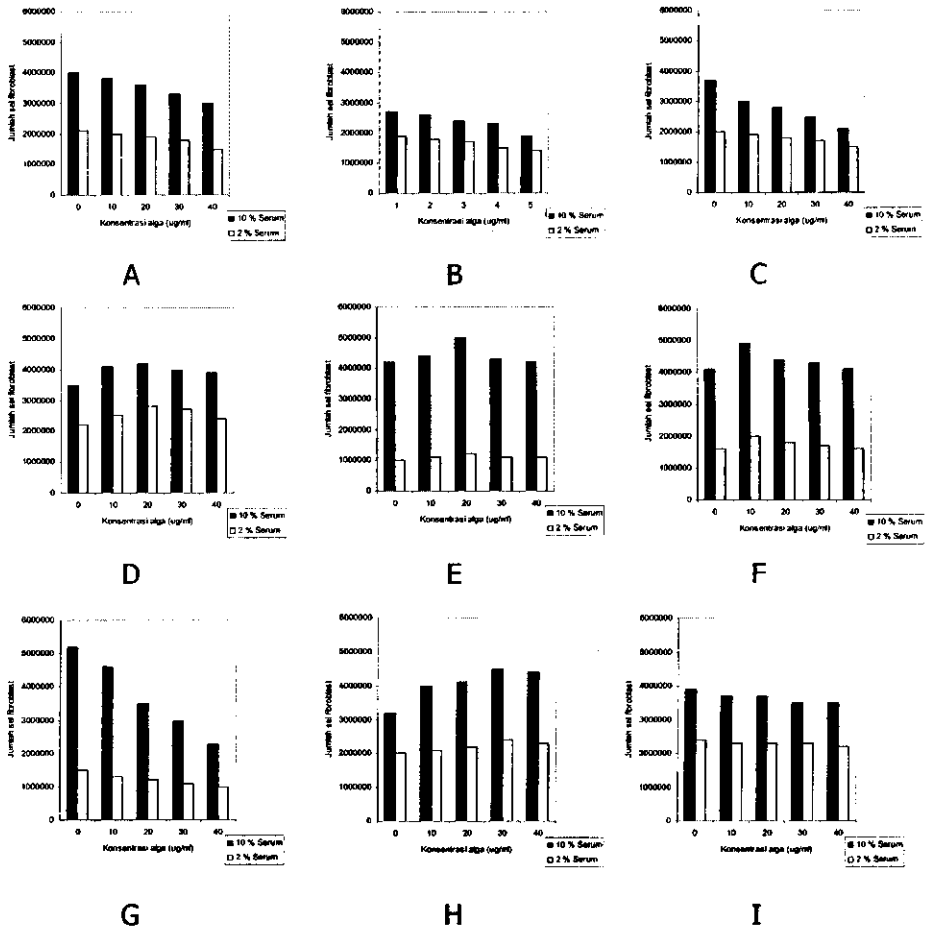
8.2 Uji In-vitro *Porphyridium cruentum*

Efek Stimulator *Porphyridium cruentum* terhadap Fibroblast

Penghitungan daya stimulan didapatkan dari persentase pertumbuhan jumlah sel fibroblast yang diinkubasi dengan berbagai konsentrasi ekstrak alga dibandingkan dengan jumlah sel fibroblast yang diinkubasi pada media kultur tanpa penambahan ekstrak alga (kontrol). Berdasarkan perhitungan dimaksud, telah diidentifikasi bahwa ekstrak *Porphyridium cruentum* yang dikultur pada temperatur 20 °C dengan fotofase 14 jam dan tiga salinitas berbeda memberikan efek stimulan terhadap pertumbuhan sel fibroblast tikus galur L929 (Gambar 8.1, 8.2, 8.3). Efek stimulan lebih signifikan terlihat pada penambahan 30 µg/ml ekstrak mikroalga yang dikultur pada 25 ‰, penambahan 20 µg/ml ekstrak mikroalga yang dikultur pada salinitas 31 ‰, dan penambahan 10 µg/ml ekstrak mikroalga yang dikultur pada salinitas 37 ‰ (Tabel 8.1 dan 8.2). Stimulan pertumbuhan sel fibroblast paling tinggi terlihat untuk penambahan ekstrak rhodophyceae antara 10 µg/ml dan 40 µg/ml, jika mikroalga ini diproduksi pada temperatur 20 °C dengan fotoperioda 18j/6j dan salinitas 31 ‰.



Jika *Porphyridium cruentum* dikembangkan pada temperatur 25 °C, hanya penambahan ekstrak mikroalga antara 10 µg/ml dan 20 µg/ml yang diproduksi pada salinitas 31 ‰ dengan fotofase 10 jam yang mampu menstimulan secara signifikan pertumbuhan fibroblast galur L929 (Gambar 8.2 dan Tabel 8.3, 8.5, 8.6).



Gambar 8.1. Jumlah sel fibroblast tikus L929 pada konsentrasi ekstrak *Porphyridium cruentum* berbeda yang dikultur pada 20 °C, salinitas 25 ‰, 31 ‰, 37 ‰; dan fotoperioda berbeda (A, B, C = 10j/14j; D, E, F = 14j/10j; G, H, I = 18j/6j)



Tabel 8.1. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium cruentum* yang diproduksi pada 20 °C dan 25 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 ‰ serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	2,17 ⁾	7,06 ⁾	13,7 ⁾	9,25 ⁾
14j/10j	4,04 ^{*)}	5,40 ^{*)}	4,77 ^{*)}	2,50 ^{*)}
18j/6j	6,45 ⁾	8,99 ⁾	10,14 ⁾	14,31 ⁾

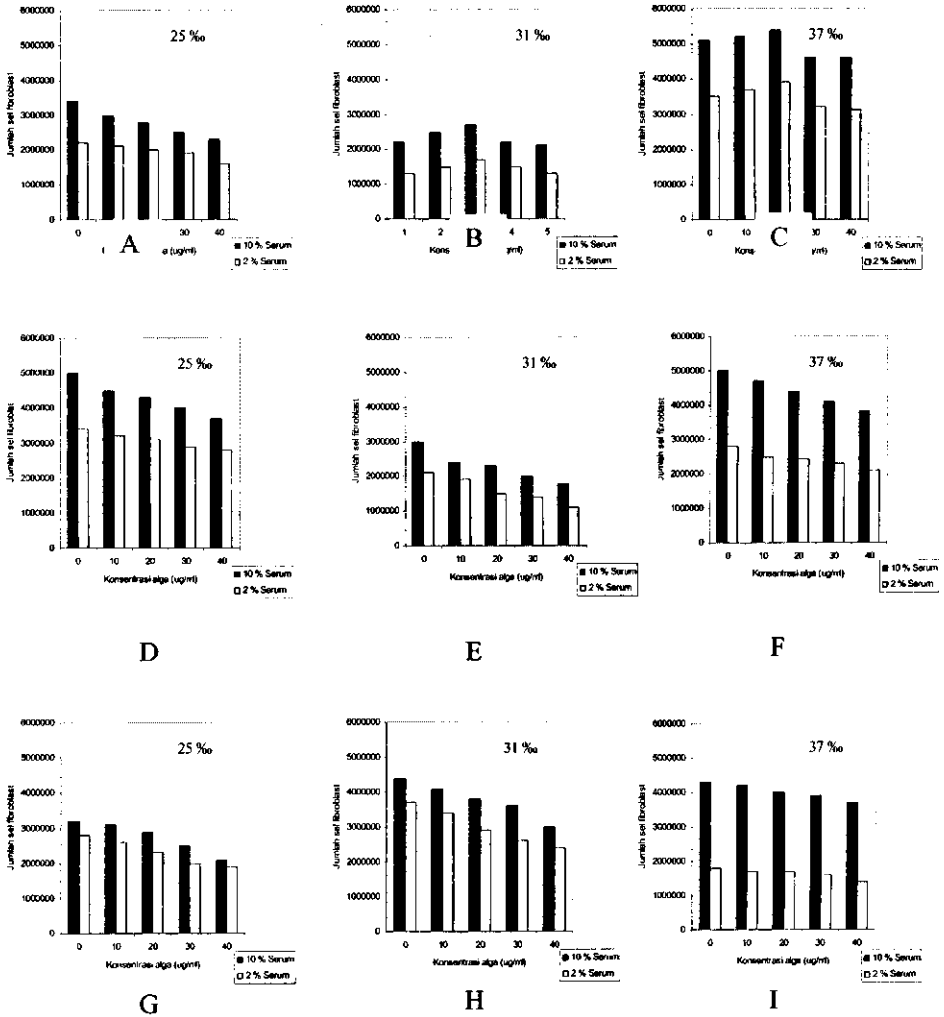
Tabel 8.2. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium cruentum* yang diproduksi pada 20 °C dan 31 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 ‰ serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	1,58 ⁾	3,32 ⁾	5,60 ⁾	7,08 ⁾
14j/10j	0,79 ^{*)}	4,03 ^{*)}	0,45 ^{*)}	0,66 ^{*)}
18j/6j	9,03 ^{*)}	18,92 ^{*)}	42,32 ^{*)}	29,84 ^{*)}

Tabel 8.3. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium cruentum* yang diproduksi pada 20 °C dan 37 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 ‰ serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	8,56 ⁾	10,15 ⁾	10,27 ⁾	6,96 ⁾
14j/10j	4,18 ^{*)}	1,44 ^{*)}	0,95 ^{*)}	0,32 ^{*)}
18j/6j	0,77 ⁾	0,36 ⁾	1,54 ⁾	1,28 ⁾

Keterangan: Angka bergaris bawah merupakan nilai t yang berbeda signifikan pada tingkat kepercayaan 5 %
^{*)} efek stimulan
⁾ efek inhibitor



Gambar 8.2. Jumlah sel fibroblast tikus L929 pada konsentrasi ekstrak *Porphyridium cruentum* berbeda yang dikultur pada 25 °C, salinitas 25 ‰, 31 ‰, 37 ‰; dan fotoperioda berbeda (A, B, C = 10j/14j; D, E, F = 14j/10j; G, H, I = 18j/6j)

Tabel 8.4. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium cruentum* yang diproduksi pada 25 °C dan 25 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	2,29 ⁾	<u>3,88</u> ⁾	<u>5,12</u> ⁾	<u>6,52</u> ⁾
14j/10j	<u>6,67</u> ⁾	<u>7,75</u> ⁾	<u>15,78</u> ⁾	<u>31,50</u> ⁾
18j/6j	1,37 ⁾	<u>7,07</u> ⁾	<u>9,25</u> ⁾	<u>18,78</u> ⁾

Tabel 8.5. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium cruentum* yang diproduksi pada 25 °C dan 31 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	<u>3,79</u> ^{*)}	<u>3,40</u> ^{*)}	1,77 ^{*)}	0,35 ^{*)}
14j/10j	<u>10,73</u> ⁾	<u>22,63</u> ⁾	<u>24,51</u> ⁾	<u>33,23</u> ⁾
18j/6j	2,43 ⁾	<u>3,08</u> ⁾	<u>10,91</u> ⁾	<u>17,45</u> ⁾

Tabel 8.6. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium cruentum* yang diproduksi pada 25 °C dan 37 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	1,08 ^{*)}	<u>3,18</u> ^{*)}	1,69 ^{*)}	1,74 ^{*)}
14j/10j	<u>3,47</u> ⁾	<u>5,74</u> ⁾	<u>8,55</u> ⁾	<u>14,14</u> ⁾
18j/6j	1,96 ⁾	<u>2,93</u> ⁾	<u>4,90</u> ⁾	<u>6,97</u> ⁾

Keterangan: Angka bergaris bawah merupakan nilai t yang berbeda signifikan pada tingkat kepercayaan 5 %
^{*)} efek stimulan
⁾ efek inhibitor

Efek Inhibitor *Porphyridium cruentum* terhadap Fibroblast

Hambatan pertumbuhan sel fibroblast tikus galur L929 terlihat pada penambahan ekstrak *Porphyridium cruentum* yang diproduksi pada temperatur 20 °C dengan fotofase 10 jam dan ketiga salinitas pemeliharaan, serta dengan fotofase 14 jam dan salinitas 37 ‰. Pada kondisi produksi yang disebutkan terakhir, efeknya terhadap penurunan pertumbuhan sel dermik relatif kecil (Gambar 8.1).

Pada temperatur 25 °C, efek inhibitor ekstrak *Porphyridium cruentum* lebih terlihat pada penambahan ekstrak yang diproduksi dengan salinitas 31 ‰ dan fotofase 14 jam dan 18 jam; terkadang juga terjadi pada kultur yang direalisir dengan salinitas 25 ‰ dan 37 ‰ dengan fotoperioda berbeda.

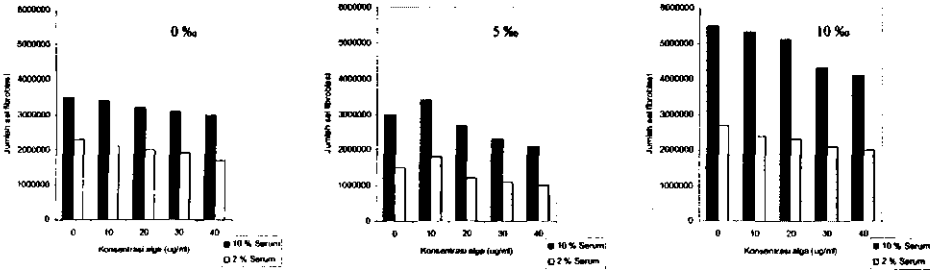
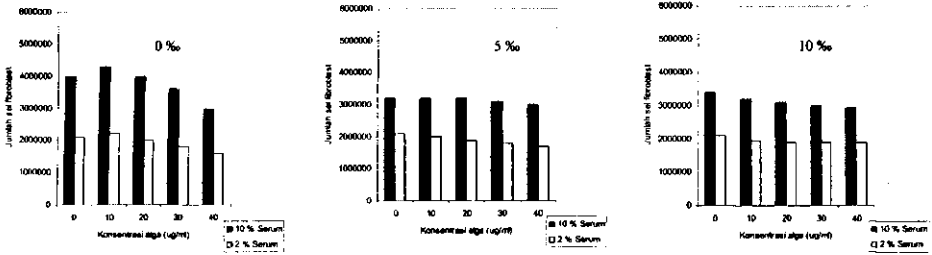
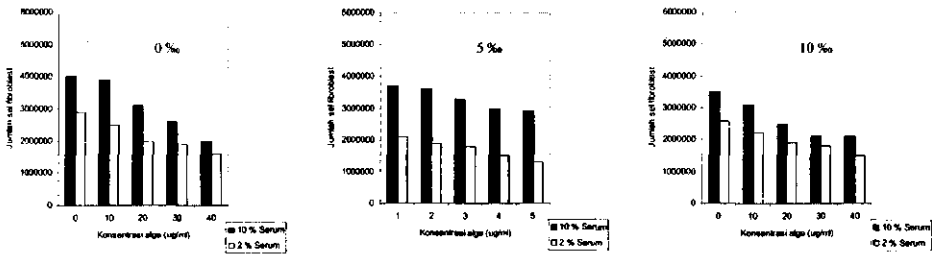
8.3 Uji In-vitro *Porphyridium aerugineum*

Efek Stimulator *Porphyridium aerugineum* terhadap Fibroblast

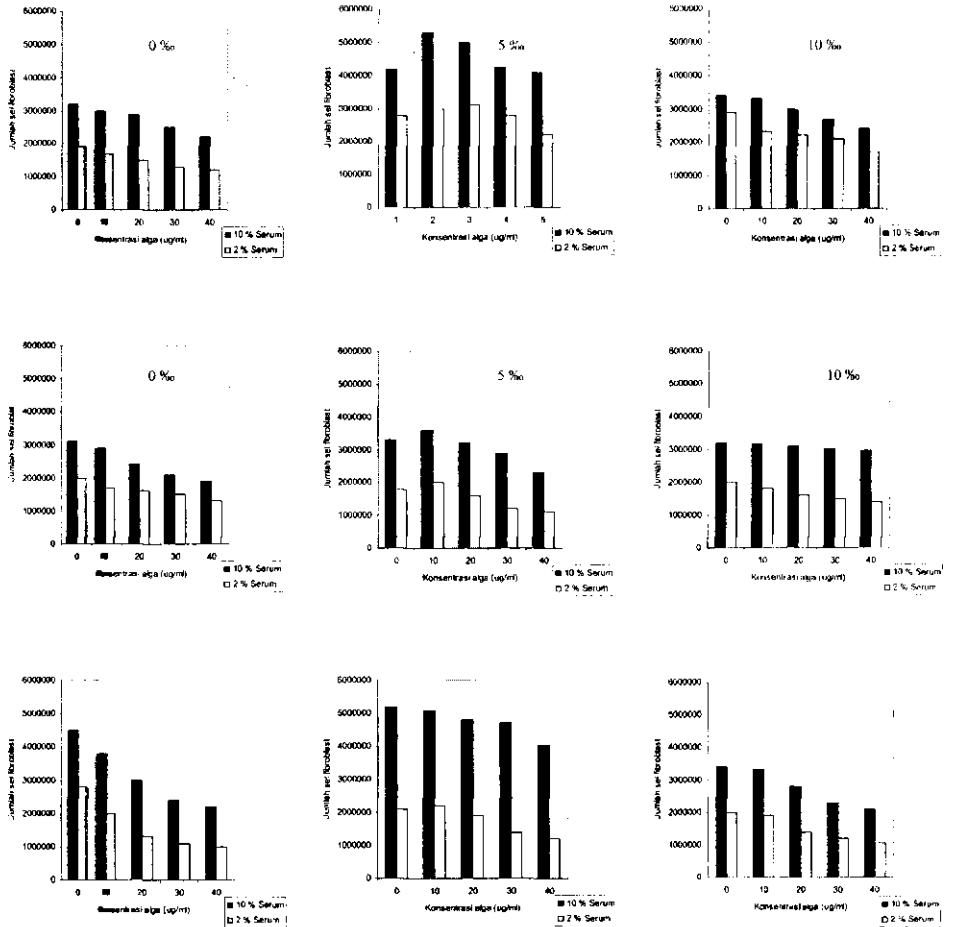
Penambahan ekstrak *Porphyridium aerugineum* dalam konsentrasi rendah sedikit memacu pertumbuhan sel dermik. Fenomena ini terlihat jika mikroalga diproduksi pada temperatur 20 °C dengan salinitas 0 ‰ dan fotofase 14 jam; dengan salinitas 5 ‰ dan fotofase 18 jam. Kondisi yang sama juga terjadi jika produksi rhodophyceae ini direalisir pada temperatur 25 °C dengan fotofase 10 jam, 14 jam dan 18 jam (Gambar 8.3 dan 8.4).

Efek stimulan *Porphyridium aerugineum* terhadap sel fibroblast secara signifikan hanya teridentifikasi pada penambahan ekstrak mikroalga sebesar 10 µg/ml dan 20 µg/ml untuk temperatur produksi 25 °C dengan fotofase 10 jam dan salinitas 5‰. *Porphyridium aerugineum* yang diproduksi dengan temperatur 20 °C, hanya penambahan ekstrak sebesar 10 µg/ml yang berasal dari kultur dengan fotofase 16 jam dan salinitas 5 ‰ yang mampu memacu pertumbuhan sel kulit secara signifikan (Tabel 8.7, 8.8, 8.9, 8.10, 8.11, 8.12).





Gambar 8.3. Jumlah sel fibroblast tikus L929 pada konsentrasi ekstrak *Porphyridium aeruginosum* berbeda yang dikultur pada 20 °C, salinitas 0‰, 5‰, 10‰; dan fotoperioda berbeda (A, B, C = 10j/14j; D, E, F = 14j/10j; G, H, I = 18j/6j)



Gambar 8.4. Jumlah sel fibroblast tikus L929 pada konsentrasi ekstrak *Porphyridium aeruginum* berbeda yang dikultur pada 25 °C, salinitas 0‰, 5‰, 10‰; dan fotoperioda berbeda (A, B, C = 10j/14j; D, E, F = 14j/10j; G, H, I = 18j/6j)

Tabel 8.7. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium aeruginenseum* yang diproduksi pada 20 °C dan 0 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	0,38 ⁾	<u>3,29</u> ⁾	<u>11,75</u> ⁾	<u>12,44</u> ⁾
14j/10j	<u>3,34</u> ^{*)}	1,06 ^{*)}	0,91 ⁾	<u>4,11</u> ⁾
18j/6j	1,00 ⁾	<u>3,54</u> ⁾	<u>5,81</u> ⁾	<u>8,02</u> ⁾

Tabel 8.8. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium aeruginenseum* yang diproduksi pada 20 °C dan 5 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	0,10 ⁾	1,47 ⁾	<u>5,38</u> ⁾	<u>5,83</u> ⁾
14j/10j	0,37 ⁾	0,51 ⁾	1,13 ⁾	1,17 ⁾
18j/6j	<u>5,37</u> ^{*)}	1,06 ⁾	<u>8,00</u> ⁾	<u>14,85</u> ⁾

Tabel 8.9. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium aeruginenseum* yang diproduksi pada 20 °C dan 10 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	<u>2,83</u> ⁾	<u>6,04</u> ⁾	<u>8,62</u> ⁾	<u>8,79</u> ⁾
14j/10j	<u>6,87</u> ⁾	<u>7,55</u> ⁾	<u>8,56</u> ⁾	<u>13,75</u> ⁾
18j/6j	<u>4,00</u> ⁾	<u>9,19</u> ⁾	<u>6,61</u> ⁾	<u>7,96</u> ⁾

Keterangan: Angka bergaris bawah merupakan nilai t yang berbeda signifikan pada tingkat kepercayaan 5 %
^{*)} efek stimulan
⁾ efek inhibitor

Tabel 8.10. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium aerugineum* yang diproduksi pada 25 °C dan 0 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	0,93 ⁾	5,70 ⁾	6,64 ⁾	7,58 ⁾
14j/10j	0,42 ⁾	7,76 ⁾	12,74 ⁾	15,73 ⁾
18j/6j	5,76 ⁾	10,56 ⁾	15,32 ⁾	16,06 ⁾

Tabel 8.11. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium aerugineum* yang diproduksi pada 25 °C dan 5 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	7,29 ^{*)}	4,04 ^{*)}	2,54 ^{*)}	0,14 ^{*)}
14j/10j	3,54 ^{*)}	1,39 ⁾	4,81 ⁾	6,36 ⁾
18j/6j	0,18 ⁾	1,45 ⁾	7,09 ⁾	11,59 ⁾

Tabel 8.12. Perbandingan statistik antara jumlah sel fibroblast antara kontrol (penambahan 0 µg/ml) dengan konsentrasi berbeda ekstrak *Porphyridium aerugineum* yang diproduksi pada 25 °C dan 10 ‰ dengan berbagai fotoperioda (10 % serum)

Fotoperioda	Konsentrasi alga			
	10 µg/ml	20 µg/ml	30 µg/ml	40 µg/ml
10j/14j	0,29 ⁾	1,44 ⁾	2,43 ⁾	3,05 ⁾
14j/10j	0,65 ⁾	1,41 ⁾	2,31 ⁾	2,83 ⁾
18j/6j	0,11 ⁾	3,68 ⁾	5,17 ⁾	5,71 ⁾

Keterangan: Angka bergaris bawah merupakan nilai t yang berbeda signifikan pada tingkat kepercayaan 5 %
^{*)} efek stimulan
⁾ efek inhibitor

Efek Inhibitor *Porphyridium aerugineum* terhadap Fibroblast

Penambahan ekstrak *Porphyridium aerugineum*, secara umum bersifat cytotoksik terhadap sel fibroblast. Penurunan pertumbuhan sel fibroblast secara signifikan mulai terlihat pada konsentrasi relatif kecil, kecuali jika *Porphyridium aerugineum* yang dikembangkan pada salinitas 0 ‰ dengan fotofase 14 jam dan temperatur 20 °C; dan salinitas 5 ‰ dengan fotofase 10 jam dan temperatur 25 °C.

Ekstrak *Porphyridium* memberi efek berbeda pada pertumbuhan sel fibroblast. Efek dari kedua rhodophyceae ini beragam sesuai jenis dan kondisi kultur. Dalam beberapa hal, ekstrak *Porphyridium* memberi efek stimulan yang mampu membantu pertumbuhan sel dermik. Diduga, larutan ekstrak mikroalga mampu menyuguhkan elemen nutritif yang dibutuhkan bagi pembelahan dan perkembangan sel fibroblast.

Kandungan asam amino dari rhodophyceae ini diperkirakan menjadi penyedia elemen nutritif bagi sel dermik. Dimana asam amino dari kedua jenis *Porphyridium* mengandung oligoelemen dan vitamin berguna dalam komposisi kosmetik sebagai sumber makanan sel kulit (GUDIN, BERNARD, CHAUMONT, THEPENIER dan HARDY, 1984). Walaupun kandungan asam amino total dari kedua rhodophyceae ini lebih rendah dari *Chlorella*, tetapi ekstrak *Porphyridium cruentum* dan *Porphyridium aerugineum* mampu memacu pertumbuhan sel dermik, seperti halnya pada *Chlorella pyrenoidosa* (ETZOL, 1991). Karena kandungan asam amino rhodophyceae ini lebih kaya akan asam glutamik, leusin dan isoleusin dibandingkan chlorophyceae. Kandungan ketiga asam amino tersebut dua kali lebih besar pada *Porphyridium* dibandingkan chlorophyceae.

Asam amino seperti asam glutamik berperan dalam siklus Krebs (GRIFFITH dan PIRT, 1967) dan juga dalam sintesa makromolekul seperti protein, serta membantu aktivasi asam riboneukleid dan asam deoksiribonukleid (REITZER, WICE dan KENNEL, 1979).

Efek positif dari liofilisat *Porphyridium* terhadap proliferasi dan survival sel fibroblast lebih penting dibandingkan alfukat dan kedele (WEPIERRE, PAPIIN dan CORMIER, 1987).



Tabel 8.14. Kandungan asam glutamik, isoleusin dan leusin (% dari total asam amino) dari *Porphyridium aeruginenum* yang kultur pada temperatur, salinitas dan fotoperioda berbeda.

Temperatur	10j/14j			14j/10j			18j/6j		
	25‰	31‰	37‰	25‰	31‰	37‰	25‰	31‰	37‰
20 °C	25,64	27,18	24,41	26,23	23,94	26,67	24,03	28,49	25,21
25 °C	19,19	18,69	19,86	18,06	18,04	17,29	18,76	18,20	18,03

Tabel 8.13. Kandungan asam glutamik, isoleusin dan leusin (% dari total asam amino) dari *Porphyridium cruentum* yang kultur pada temperatur, salinitas dan fotoperioda berbeda.

Temperatur	10j/14j			14j/10j			18j/6j		
	0‰	5‰	10‰	0‰	5‰	10‰	0‰	5‰	10‰
20 °C	20,30	20,61	21,46	19,86	18,66	23,61	20,04	22,00	19,77
25 °C	18,88	19,80	19,14	18,87	19,39	20,73	20,68	19,85	20,34

Dalam beberapa kondisi kultur, ekstrak dari *Porphyridium* mampu menstimulan pertumbuhan sel fibroblast. Efek stimulan ini terutama didukung oleh kandungan asam amino rhodophyceae ini, yang mampu sebagai penyedia elemen nutritif bagi pertumbuhan sel.