



OPTIMALISASI EKSTRAKSI DAN UJI STABILITAS *PHYCOCYANIN* DARI MIKROALGA *Spirulina platensis*

Prayudi Eko Setyawan (L2C007079) dan Yudha Satria (L2C007098)

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro
Jln. Prof. Sudharto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024)7460058
Pembimbing: Prof.Dr. Ir. Bakti Jos, DEA

Abstrak

Spirulina platensis adalah salah satu mikroalga penghasil Phycocyanin yang relatif cepat berproduksi dan mudah dalam sistem pemanenannya. Phycocyanin yang secara struktural mirip dengan β -karoten merupakan pigmen biru alami yang berharga dan banyak dimanfaatkan pada bidang kosmetik, obat-obatan dan farmasi. Tujuan yang ingin dicapai dalam penelitian ini adalah melakukan studi evaluasi produksi Phycocyanin dengan teknik ekstraksi dengan beberapa pelarut polar pada berbagai konsentrasi untuk mendapatkan hasil ekstrak yang maksimum. Metode penelitian yang diterapkan dalam penelitian ini memiliki beberapa tahap yaitu persiapan bahan, ekstraksi, studi kelarutan Phycocyanin, dan uji stabilitas Phycocyanin. Variabel berubah dalam penelitian ini adalah jenis pelarut polar Air, Asam asetat 70%, 75%, 80%, Amonium sulfat 50%, 55%, 60%. Analisa hasil kadar Phycocyanin yang terkstrak menggunakan metode spektrofotometri. Hasil pengamatan menghasilkan ekstrak zat warna biru yang memiliki intensitas warna tertinggi dengan absorbansi maksimalnya 620 nm. Pelarut asam asetat 80% merupakan pelarut yang paling efektif mengekstrak zat warna biru Phycocyanin dibandingkan air dan amonium sulfat. Ekstraksi dipengaruhi oleh pH yaitu kenaikan serapan (absorbansi) dengan meningkatnya pH dan tidak dipengaruhi oleh suhu dan lama penyimpanan zat warna.

Kata Kunci: Ekstraksi cair-cair; Phycocyanin; *Spirulina*

Abstract

Spirulina platensis is one of the microalgae Phycocyanin-producing that produce a relatively quick and easy in their harvest. Phycocyanin is structurally similar to β -carotene is a natural blue pigment is valuable and much used in the field of cosmetics, drugs and pharmaceuticals. From the results of previous research found that Phycocyanin has important functions in cancer care. The aim of this research is to conduct evaluation studies Phycocyanin production by extraction with polar solvents at various concentrations to obtain extracts for maximum results. The research methods in this study has several stages, namely preparation of materials, extraction, solubility studies of Phycocyanin, Phycocyanin's stability test. Changing variables in this study are water, acetic acid 70%, 75%, 80%, ammonium sulphate 50%, 55%, 60%. The analysis of the extracts of Phycocyanin's content using spectrophotometric methods. The observations produces a blue pigment which has the highest color intensity with maximum absorbance of 620 nm. Acetic acid 80% is the most effective solvent to extract the blue pigment Phycocyanin than water and ammonium sulfate. Extraction is influenced by the pH of the increase in absorption (absorbance) with increasing pH and was not influenced by storage temperature and time

Keywords : Liquid-liquid extraction; Phycocyanin; *Spirulina*

1. Pendahuluan

Mikroalga telah lama menjadi sumber pangan protein tinggi yang dikonsumsi manusia. Mikroalga *Spirulina* merupakan salah satu sumber pangan berpotensi, sebagai contoh satu acre atau 0,4646 hektar *Spirulina* dapat menghasilkan sekitar 20 kali lebih baik protein daripada satu acre kedelai atau jagung dan 200 kali lebih baik daripada daging sapi (Kozlenko dan Henson, 1998). *Spirulina* mengandung senyawa kimia yang mampu merangsang pembentukan sel darah merah dan darah putih yang berperan penting pada sistem kekebalan tubuh. Senyawa kimia tersebut diketahui berupa pigmen biru gelap, yakni *Phycocyanin* (Kozlenko dan Henson, 1998).

Beberapa alasan utama pemanfaatan *Spirulina* adalah memiliki nilai kualitas tinggi terutama untuk *Spirulina* keringnya, memiliki produktivitas penghasil protein yang tinggi dan mengandung pigmen biru (*Phycocyanin*) hingga mencapai 20 % dari bobot keringnya (Landau, 1992). Oleh karena itu *Spirulina* sangat potensial untuk dijadikan sumber zat pewarna alami. Zat warna banyak digunakan pada makanan, minuman, tekstil, kosmetik, peralatan rumah tangga dan banyak lagi. Penggunaan zat warna sangat diperlukan untuk menghasilkan suatu produk yang lebih bervariasi dan juga menambah nilai artistik produk tersebut.

Dari hasil penelitian terdahulu diketahui bahwa *Phycocyanin* mempunyai fungsi penting dalam perawatan kanker. *Phycocyanin* mempunyai kandungan yang cukup signifikan sebagai antioksidan, melindungi fungsi hati, dan membuang senyawa radikal (Weil, 2000). Oleh karena itu *Phycocyanin* sangat luas digunakan dalam bidang pewarnaan makanan dan kosmetik. Kandungan *Phycocyanin* dalam 10 gram *Spirulina* kering juga termasuk cukup tinggi yaitu 1400 mg atau sekitar 14% (Henrikson, 2000).

Berdasarkan penelitian terdahulu diketahui bahwa biomassa sel *Spirulina platensis* akan jauh lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti pada air dan larutan penyangga (*buffer*) bila dibandingkan dengan pelarut kurang polar seperti aseton atau kloroform. Perubahan jenis *solvent* yang digunakan saat mengekstrak *Phycocyanin* sangat mempengaruhi hasil dari ekstrak yang didapat, hal yang mungkin terpengaruh antara lain jumlah *Phycocyanin* yang didapat, juga kestabilan dari hasil ekstrak.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan studi evaluasi produksi *Phycocyanin* dengan teknik ekstraksi dengan pelarut polar, menghasilkan ekstrak *Phycocyanin* yang maksimum, dan mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut polar yang digunakan terhadap laju ekstraksi *Phycocyanin*.

2. Bahan dan Metode Penelitian

Pada penelitian ini, *Spirulina platensis* didapatkan dari kolam pembiakan mikroalga Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Diponegoro kampus Jepara. *Spirulina* dibiakkan dalam media tumbuh alami air laut dengan waktu pembiakan 14 hari. Setelah dilakukan pemanenan, *Spirulina* dikeringkan dengan menggunakan sinar matahari. Bentuk *Spirulina* yang akan diekstrak berbentuk serbuk *Spirulina* kering *Spirulina* kering ukuran 140 mesh yang didapat dengan menghaluskannya dengan mortar.

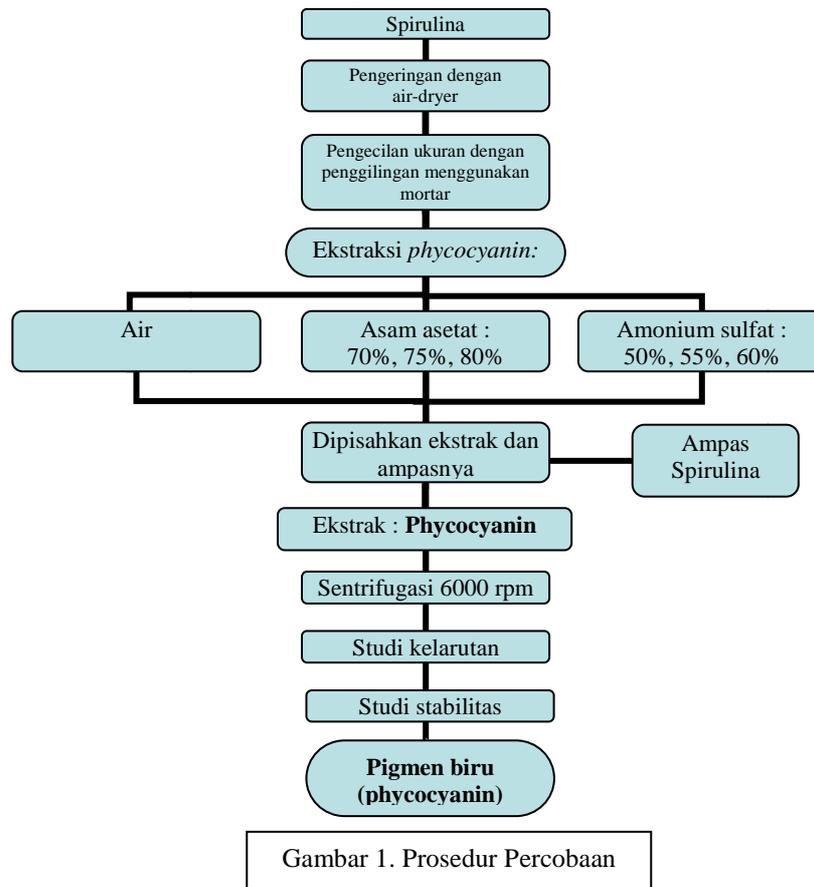
Penelitian dilakukan pada bulan November 2010 – Januari 2011 dan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Industri dan Laboratorium Bioproses Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Prosedur percobaan meliputi penyiapan bahan baku, ekstraksi, uji kelarutan dan uji kestabilan zat warna.

Alat yang dipakai berupa beker glass, labu erlenmeyer dengan berbagai volume, tabung reaksi besar, alat sentrifugasi, lemari pendingin, dan alat spektrofotometri. Variable tetap dalam penelitian ini adalah massa *Spirulina*, kecepatan sentrifugasi, lama sentrifugasi, volume *solvent* dan volume *buffer*. Variabel berubah adalah asam asetat 70%, 75%, dan 80% ammonium sulfat 50%, 55%, dan 60%, dan air. Tiap variabel, dibuat rangkap 3 atau triplikat.

Prosedur kerja proses dimulai dengan menghaluskan *Spirulina* hingga ukuran 140 mesh dengan menggunakan mortar, kemudian mencampur serbuk *Spirulina* tersebut dengan larutan *buffer* fosfat pH 7.0 dan disimpan dalam refrigerator selama 24 jam, kemudian disentrifugasi pada 6.000 rpm selama 60 menit. Hasil sentrifugasi berupa padatan dibuang dan bagian cairan dicampurkan dengan *solvent* sesuai dengan variabel, kemudian disentrifugasi lagi dengan kecepatan 6000 rpm selama 60 menit. Pendugaan hasil penampakan untuk masing-masing jenis senyawa yang diperoleh dari hasil ekstraksi berdasarkan pola absorpsi pada panjang gelombang 610 – 650 nm.

Uji kelarutan *Phycocyanin* terhadap temperatur dan pH, dan uji kestabilan yang dilakukan selama 8 hari dengan monitoring tiap 24 jam dengan menggunakan alat spektrofotometri. Kelarutan *Phycocyanin* dikaji pada pH asam (2, 3, 4) dengan menggunakan HCl dan basa (10, 11, 12) dengan menggunakan NaOH. Kelarutan *Phycocyanin* dikaji terhadap temperatur dengan penyimpanan *Phycocyanin* pada temperatur kamar ($27 \pm 2^\circ\text{C}$) dan pada temperatur refrigerator ($14^\circ\text{C} - 17^\circ\text{C}$). Ekstrak *Phycocyanin* yang telah diuji kelarutannya terhadap temperatur disimpan selama 8 hari untuk diuji kesetabilannya. Setelah interval waktu 24 jam, konsentrasi *Phycocyanin* diukur absorbansinya.

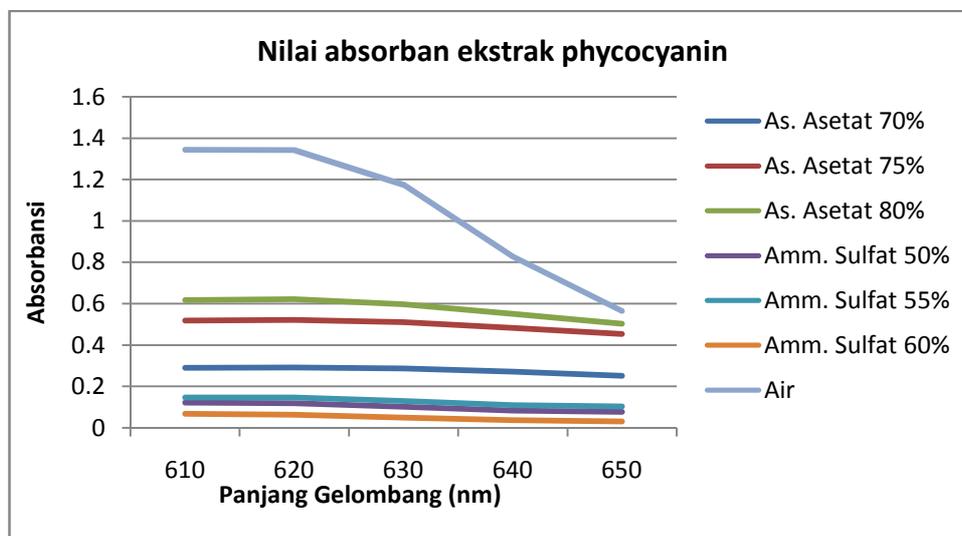
Prosedur percobaan secara sistematis digambarkan pada gambar 1.



3. Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi *Phycocyanin*

Pada ekstraksi zat warna biru (*Phycocyanin*) dari mikroalga *Spirulina platensis* dengan menggunakan pelarut asam asetat 70%, 75%, 80%, amonium sulfat 50%, 55%, 60%, dan air menunjukkan penurunan intensitas zat warna biru seiring dengan kenaikan panjang gelombang yang digunakan seperti ditunjukkan grafik gambar 2.



Gambar 2. Hubungan pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi *Phycocyanin* terhadap absorbansi

Kenaikan intensitas terjadi pada panjang gelombang 610-620 nm dan kemudian mengalami penurunan pada panjang gelombang 630-650 nm. Hal ini sesuai dengan karakteristik dari *Phycocyanin* itu sendiri dimana *Phycocyanin* adalah *phycobiliprotein* yang diisolasi dari *Spirulina platensis* (alga hijau-biru) yang tampak pada panjang gelombang 620 nm (Boussiba dan Richmond, 1979).

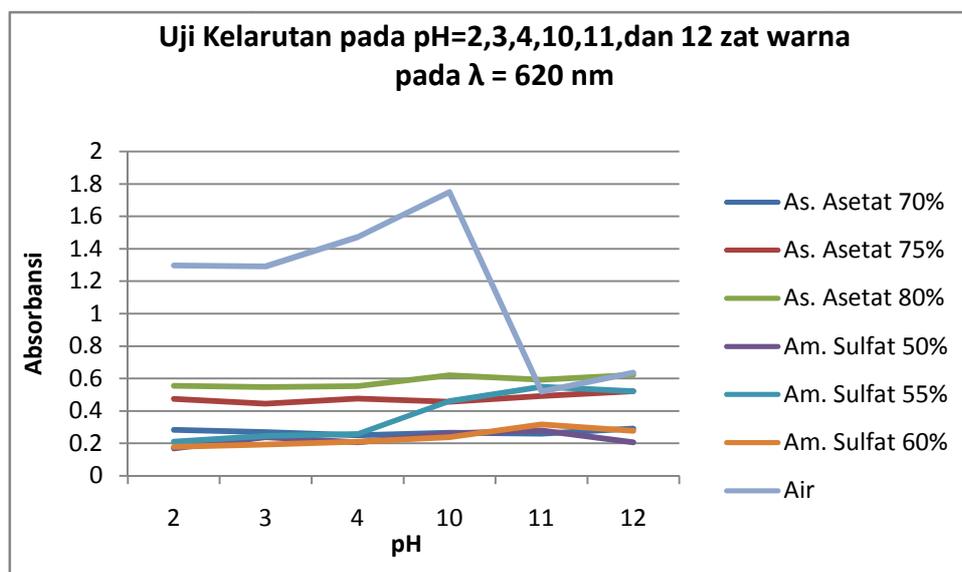
Pada penggunaan pelarut untuk ekstraksi, performa amonium sulfat paling rendah dibandingkan pelarut-pelarut yang lain. Amonium sulfat kadar 55% paling efektif mengekstrak *Phycocyanin* dibandingkan amonium sulfat kadar 50% dan 60%. Hal ini didukung oleh penelitian Arlyza (2005), dan Kabinawa (1996) dimana pengendapan dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 55% memberikan intensitas warna biru *Phycocyanin* terbaik. Hasil *Phycocyanin* yang diperoleh dari pengendapan dengan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ berupa presipitat biru. Performa pelarut asam asetat dalam mengekstrak *Phycocyanin* lebih baik daripada pelarut amonium sulfat dan pelarut aquadest karena menghasilkan ekstrak paling tinggi daripada pelarut yang lain. Pengendapan dengan asam asetat 80% memberikan intensitas warna biru *Phycocyanin* terbaik.

Berdasarkan penelitian Arlyza (2005) diketahui bahwa biomassa sel *Spirulina platensis* akan jauh lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti pada air dan larutan penyangga (*buffer*) bila dibandingkan dengan pelarut kurang polar seperti aseton atau kloroform. Hal ini dikarenakan *phycobiliprotein* adalah senyawa protein polar sehingga akan larut dalam pelarut polar (Romay, et.al, 2003). Aquadest (air) adalah pelarut polar sehingga cukup baik untuk melarutkan *Phycocyanin*. Kepolaran suatu pelarut sebanding dengan konstanta dielektrik yang dimilikinya. Air memiliki konstanta dielektrik sebesar 80 sedangkan asam asetat memiliki konstanta dielektrik 6,2 (Perry, 1999) sehingga air lebih efektif mengekstrak *Phycocyanin* daripada pelarut-pelarut yang lain.

Studi kelarutan *Phycocyanin*

Pengaruh pH terhadap stabilitas zat warna *Phycocyanin*

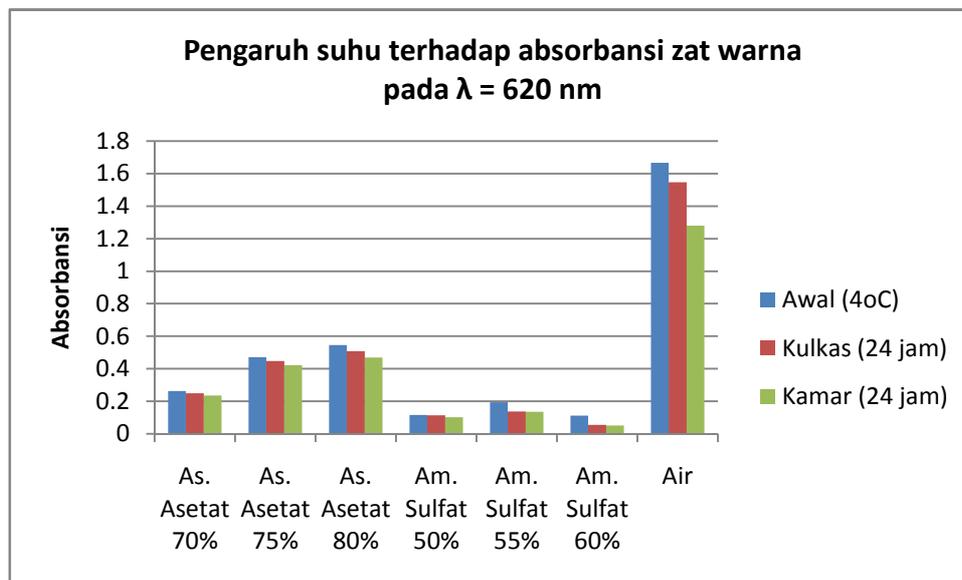
Hasil pengamatan pada pH yang berbeda memperlihatkan adanya kenaikan serapan (absorbansi) dengan meningkatnya pH seperti yang ditunjukkan pada grafik gambar 3. Kondisi pH sangat mempengaruhi intensitas warna, seperti pada penelitian Duangsee (2009) dimana semakin rendah pH semakin kecil serapan yang dihasilkan. *Phycocyanin* secara struktur molekul mengembang diakibatkan oleh protein (*phycobiliprotein*) yang menggumpal dan mengendap pada waktu dilakukan sentrifugasi sehingga sebagian *Phycocyanin* terbuang bersama endapan lain (Duangsee, 2009).



Gambar 3. Hubungan pengaruh pH asam dan basa terhadap absorbansi zat warna

Pengaruh kondisi penyimpanan terhadap stabilitas zat warna *Phycocyanin*

Hasil pengamatan intensitas warna dari zat warna biru (*Phycocyanin*) yang telah disimpan pada suhu kamar dan suhu refrigerasi (15°C) menunjukkan perubahan intensitas warna yang tidak begitu signifikan. Namun, secara keseluruhan ada kecenderungan mengalami penurunan absorbansi seiring dengan kenaikan temperatur penyimpanan seperti ditunjukkan pada gambar 4.



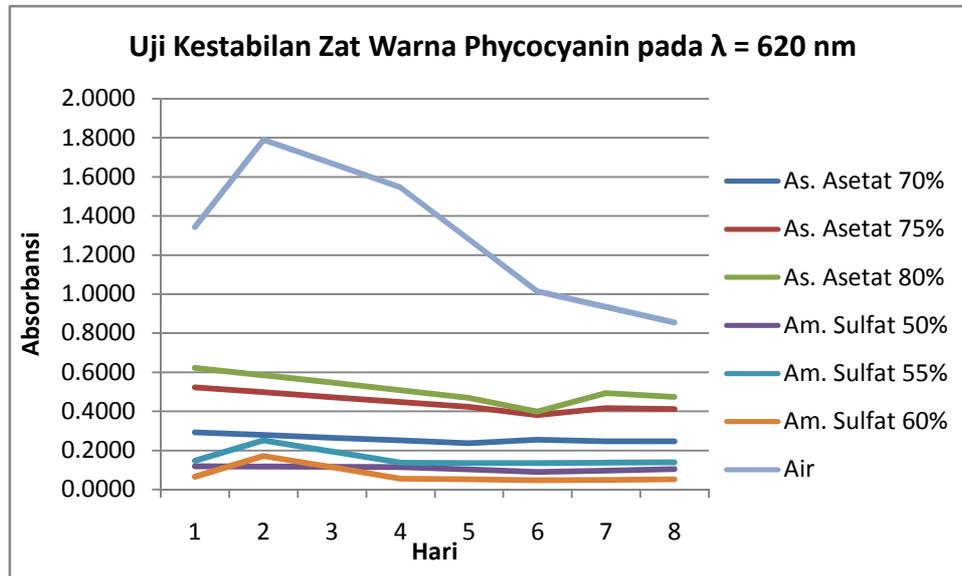
Gambar 4. Hubungan pengaruh temperatur tempat penyimpanan terhadap absorbansi zat warna

Hasil penelitian dari Lydia dkk (2001) pada pengamatan intensitas warna dari kulit buah rambutan yang disimpan pada kondisi suhu kamar dan gelap selama 7 hari, menghasilkan penurunan intensitas warna sebesar 41 % bila dibandingkan dengan zat warna yang disimpan pada kondisi dingin (15°C). Perubahan saat penyimpanan dimungkinkan disebabkan (1). Reaksi kopigmentasi. (2). Diduga ekstrak masih mengandung enzim polifenolase yang mengkatalis reaksi pencoklatan (Lydia, 2001). Sehingga penyimpanan pada kondisi kamar mengakibatkan terjadinya perubahan intensitas zat warna yang cukup besar akibat dua hal tersebut. Dan penyimpanan pada kondisi dingin dapat menghambat terjadinya reaksi kopigmentasi dan reaksi pencoklatan.

Dari uji stabilitas baik uji pH dan uji kondisi penyimpanan menunjukkan bahwa pelarut air mengalami ketidakstabilan intensitas warna. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan tajam dan fluktuasi absorbansi jika zat warna ditempatkan pada kondisi tertentu. Hal ini disebabkan karena senyawa air sendiri sangat sensitif terhadap suhu dan pH dibandingkan asam asetat. Asam asetat merupakan larutan penyangga (*buffer*) sehingga relatif stabil terhadap perubahan pH dan memiliki titik didih 118°C lebih tinggi daripada titik didih air. Hal inilah yang menyebabkan ketidakstabilan air sebagai pelarut pada ekstraksi zat warna *Phycocyanin*.

Studi Stabilitas *Phycocyanin*

Hasil pengamatan terhadap lama penyimpanan menunjukkan perubahan intensitas warna yang tidak begitu signifikan meskipun ada beberapa terjadi penurunan nilai serapan warna pada beberapa pelarut seperti ditunjukkan gambar 5.



Gambar 5. Hubungan lama penyimpanan terhadap absorbansi zat warna

Penurunan absorbansi disebabkan adanya sinar matahari yang mengakibatkan pigmen mengalami degradasi sewaktu melakukan pengamatan spektrofotometri terhadap sampel. Pada pengamatan terhadap stabilitas warna dari kulit rambut, adanya sinar matahari menyebabkan degradasi pigmen yang ditunjukkan penurunan absorbansi, dimana secara visual perubahan pigmen semakin bening kemudian warna merah tidak terlihat. Penurunan nilai absorbansi atau pemucatan warna disebabkan karena terjadinya perubahan struktur pigmen anthosianin (Lydia dkk,2001). Sekali lagi pelarut air menunjukkan ketidakstabilan dalam menjaga intensitas warna biru

4. Kesimpulan

Ekstraksi zat warna biru (*Phycocyanin*) dari *Spirulina platensis* menghasilkan ekstrak zat warna biru yang memiliki intensitas warna tertinggi dengan absorbansi maksimalnya 620 nm. Pada ekstraksi zat warna biru (*Phycocyanin*) dengan menggunakan pelarut asam asetat, amonium sulfat, dan air menunjukkan karakteristik sebagai berikut:

1. Pelarut asam asetat merupakan pelarut yang paling efektif mengekstrak zat warna biru *Phycocyanin* dibandingkan air dan amonium sulfat.
2. Dipengaruhi oleh pH. Kenaikan serapan (absorbansi) dengan meningkatnya pH.
3. Tidak dipengaruhi oleh temperatur penyimpanan. Disimpan pada suhu kamar dan suhu refrigerasi (15°C) menunjukkan perubahan intensitas warna yang tidak begitu signifikan.
4. Lama penyimpanan tidak mempengaruhi perubahan intensitas warna yang tidak begitu signifikan

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Allah SWT atas nikmat yang telah diberikan-Nya. Pada kesempatan ini mengucapkan terima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Ir. Bakti Jos, DEA selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan bimbingan, pengarahan, dan koreksi sehingga laporan penelitian ini dapat diselesaikan.



Program PKM Penelitian 2011 Dirjen Dikti Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini. Serta semua pihak yang telah banyak membantu terselesainya laporan penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Arlyza, I.S. 2005. Isolasi Pigmen Biru *Phycocyanin* dari Mikroalga *Spirulina platensis*. Oseanologi dan Limnologi ISSN 0125-9830 No.38 : 79-92
- Boussiba, S; Richmond, A. 1979. Isolation and Purification of *Phycocyanin* from the Blue Green Alga *Spirulina platensis*. Arch. Microbiol 120:155-159
- Duangsee, R; Phoopat, N; dan Ningsanond, S. 2009. *Phycocyanin* extraction from *Spirulina platensis* and extract stability under various pH and temperatur. As. J. Food Ag-Ind. 2009, 2(04), 819-826.
- Henrikson, R. 2000. Earth food spirulina. Essential Fatty Acids and Phytonutrients. Ronore Enterprises, Inc. California. <http://www.spirulinasource.com/earthfoodch2b.html>
- Kabinawa, I.N.K. 1996. Growing the Cyanobacterium *Spirulina platensis* in an artificial wastewater medium. Annual Report of IC Biotech. International Center for Biotechnology, Osaka University, Osaka, Japan.
- Lydia, S.W; Simon, B.W; dan Susanto, T. 2001. *Ekstraksi dan Karakterisasi Pigmen dari Kulit Buah Rambutan (Nephelium Lappaceum)*. Var. Binjai Biosain, Vol. 1 No. 2, hal. 42-53
- Landau, M. 1992. *Introduction to aquaculture*. JhonWiley & Sons. Inc. Canada:76-79.
- Perry, R. 1999. *Perry's Chemical Engineering HandBook*, Mc-Graw Hill. Inc
- Romay, Ch. 2003. *C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects*. Current Protein and Peptide Science, 2003, 4, 000-000.
- Weil, A. 2000. *Green food Spirulina, Blue-green algae and Chorella* .<http://www.wellness.com>