

OPTIMASI PROSES EKSTRAKSI PIGMEN KAROTENOID DARI *Spirulina plantesis*

Wahyu Aji Pamungkas (L2C006107) dan Yanuar Erwin Kurniady (L2C006113)

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro
Jln. Prof. Sudharto, Tembalang, Semarang, 50239, Telp/Fax: (024)7460058
Pembimbing: Ir. Indro Sumantri, M.Eng

Abstrak

Karotenoid merupakan pigmen organik yang terdapat secara alami pada khromoplast dari tanaman, organisme fotosintesis seperti alga (spirulina plantesis, dunaliella sp). Merupakan salah satu jenis pewarna pada makanan dan merupakan kelompok pigmen terbesar yang diproduksi di alam. Karotenoid berperan sebagai anti oksidan dalam tubuh. Karotenoid merupakan scavenger yang efisien untuk radikal bebas serta dapat secara signifikan mengurangi resiko dari penyakit kanker. Pelaksanaan penelitian menggunakan metode ekstraksi dengan memvariasikan pada bentuk Spirulina sp yaitu serbuk dan serpihan (flakes), suhu (30, 40, 50, 60 °C) dan waktu operasi (1, 2, 3, 4 jam). Spirulina plantesis di ekstraksi sesuai variabel yang ditentukan. Setelah itu, masing-masing sampel di analisa dengan Spektrofotometer UV-Vis SP 300. Metode pengolahan data dengan analisa ANOVA dan dengan bantuan program STATISTICA 6. Kondisi optimum yang didapat untuk bentuk bahan bentuk serpihan adalah pada suhu 47,1°C dan lamanya ekstraksi 3,5 jam. Untuk kondisi bahan bentuk serbuk adalah pada suhu 51,9°C dan lamanya ekstraksi 3,4 jam. Perbandingan yang didapat antara bentuk serbuk dan serpihan mengindikasikan bahwa bentuk serbuk mampu menghasilkan yield lebih baik daripada bentuk serpihan. Untuk menjaga kualitas karotenoid agar tidak rusak, proses ekstraksi sebaiknya dilakukan tidak pada suhu yang tinggi

Kata kunci: Ekstraksi, karotenoid, spirulina.

Abstract

Carotenoids are organic pigments that are naturally in khromoplast of plants, photosynthesis organisms such as algae (Spirulina plantesis, Dunaliella sp). It is one of the dyes used in foods and the largest group of pigments that are produced in nature. Carotenoids act as anti-oxidants in the body. Carotene is an efficient scavenger of free radicals and can significantly reduce the risk of cancer. Conducting research using the extraction method by varying the form of powder and flakes, temperature (at 30, 40, 50, 60 °C) and operating time (1, 2, 3, 4 hours). Spirulina plantesis in the extraction according to the specified variable. After that, each sample was analyzed by UV-Vis spectrophotometer SP 300. Analyzing data with ANOVA analysis and with STATISTICA 6 program. The optimum conditions obtained for the form of flake material is at a temperature of 47.1 ° C and the duration of the extraction of 3.5 hours. For the powder form of the condition of the material is at a temperature of 51.9 ° C and the duration of the extraction of 3.4 hours. Comparisons drawn between the shape of powders and flakes show that powder can produce a better yield than the form of flakes. To maintain the quality of carotenoids and prevent damage, the extraction process should be done not at high temperatures

Key Word: *ekstraktion, carotenoid, spirulina*

1. Pendahuluan

Spirulina plantesis merupakan sianobakteria yang berbentuk filament yang menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang bernilai tinggi (Tri panji & suharyanto, 2001) memiliki habitat di danau-danau atau perairan dengan kandungan garam yang tinggi dan sangat penting dalam bioteknologi nutrisi, industri, dan lingkungan serta kandungan proteinnya yang cukup tinggi. *Spirulina* banyak dimanfaatkan sebagai bahan tambahan pada makanan, untuk pakan ikan (M. Ahsan B. Habiba and Mashuda Parvin, 2008), unggas hal ini dikarenakan kandungan beberapa zat yang terkandung didalamnya antara lain protein, mineral, vitamin B₁₂, karotenoida, asam lemak esensial seperti α -linolenic acid (Robert Henrikson, 2009).

Sekarang industri makanan banyak mengalami peningkatan sejak banyak bahan-bahan makanan yang didapatkan dari hasil ekstraksi dari produk alami. *Spirulina plantesis* merupakan salah satu dari beberapa jenis alga yang banyak

menarik perhatian berhubungan dengan manfaatnya sebagai bahan makanan pada manusia. Beberapa studi yang berhubungan dengan *Spirulina plantesis* atau hasil ekstraksinya menunjukkan beberapa keuntungan fisiologis seperti antioksidan, antimicrobial, anti-inflammatory, antiviral, dan antitumoral (Spolaore, Et Al, 2006)

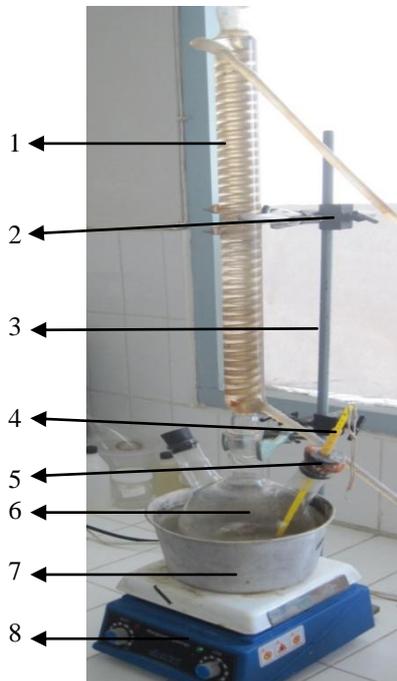
Spirulina plantesis menghasilkan berbagai senyawa bioaktif yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi seperti karotenoida (Tri panji & suharyanto, 2001). Karotenoida merupakan pigmen yang secara alami terdapat pada khromoplast dari tanaman dan beberapa organisme fotosintesis seperti alga dan beberapa tipe dari jamur dan bakteri (www.wikipedia.com). Pengambilan pigmen karotenoida dari alga *Spirulina plantesis* dapat dilakukan dengan metode ekstraksi (Hsieh L. K., et al, 1974).

Parameter yang digunakan sebagai perbandingan dalam ekstraksi pigmen karotenoid ini adalah temperature operasi, jenis solven yang digunakan dalam ekstraksi serta lama waktu operasi ekstraksi. Analisa secara kuantitatif hasil ekstraksi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer (Paul D. Fraser and Peter M. Bramley, 2005).

Kebutuhan akan antioksidan (karotenoid), terus meningkat. Sehingga semakin banyak dilakukan penelitian untuk mencari sumber-sumber yang mampu memproduksi karotenoid dalam jumlah banyak. Salah satu sumber karotenoid adalah dari mikroalga *Spirulina plantesis*. Banyak telah dilakukan berbagai penelitian tentang kandungan yang ada dalam *Spirulina plantesis*. Akan tetapi, banyak penelitian terdahulu yang menggunakan berbagai kondisi operasi. Oleh sebab itu, proses ekstraksi pigmen karotenoid dari *Spirulina plantesis* perlu ditentukan kondisi optimumnya.

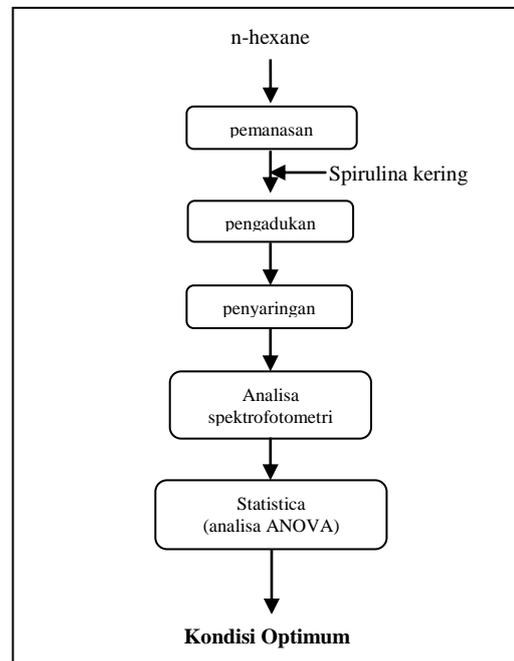
Adapun tujuan dari penelitian ini yaitu menentukan pengaruh temperatur dalam ekstraksi pigmen karotenoid dari, Menentukan pengaruh waktu operasi dalam ekstraksi pigmen karotenoid serta mengetahui kondisi optimum proses ekstraksi pigmen karotenoid

2. Bahan dan Metode Penelitian



Gambar 1 Alat Utama ekstraksi

Keterangan:
 1) Pendingin balik.
 2) Klem
 3) Statif
 4) Thermometer
 5) Sumbat gabus
 6) Labu leher tiga
 7) Water bath
 8) Magnetic stirrer + pemanas



Gambar 2 Diagram alir proses ekstraksi karotenoid dari *Spirulina plantesis*

Pigmen karotenoid diperoleh dari hasil ekstraksi *Spirulina plantesis*, sampel yang digunakan ada dua jenis yaitu dalam bentuk kepingan/flakes atau serbuk. Sampel diperoleh dari Balai Besar Pusat Penelitian Air Payau (BBPPAP) Jepara, Pada penelitian ini digunakan pelarut n-hexane untuk melarutkan karotenoid. Variabel tetap pada penelitian ini adalah masa spirulina (9 gram), jenis pelarut (n-hexane), dan volume pelarut (270 ml). Sedangkan variabel berubahnya antara lain temperatur ekstraksi (30, 40, 50, 60 °C), waktu ekstraksi (1, 2, 3, 4 jam), serta pretreatment bahan (flakes/kepingan dan serbuk). Metode yang digunakan adalah ekstraksi dengan menggunakan labu leher tiga yang dilengkapi dengan pendingin dan magnetic stirrer + pemanas

Prosedur ekstraksi dimulai dengan memasukkan 270 ml pelarut n-hexane kedalam labu leher tiga, kemudian panaskan sampai temperatur yang dikehendaki sesuai dengan variabel (30, 40, 50, 60 °C), apabila suhu yang diinginkan telah tercapai masukan sampel spirulina kedalam labu leher tiga sebanyak 9 gram. Mulai proses ekstraksi dan hitung waktunya, ambil sampel sebanyak 5 ml untuk dianalisa setiap jam. Simpan dalam wadah tertutup dan

terlindung dari sinar matahari. Hasil ekstraksi tersebut kemudian di analisa menggunakan spektrofotometer Type SP-300.

3. Hasil dan Pembahasan

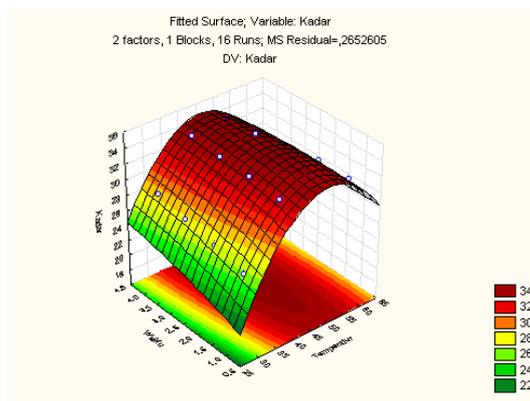
Hasil perhitungan kadar karotenoid dari setiap variabel kemudian diolah menggunakan program STATISTICA

6. Hasil perhitungan kadar karotenoid dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini

Tabel 1 Hasil Percobaan Ekstraksi Pigmen Karotenoid dari *Spirulina plantesis*

Suhu (°C)	Waktu (Jam)	Kadar Variabel Flakes (mg/100gr)	Kadar Variabel Serbuk (mg/100gr)
30	1	25,70	78,07
30	2	26,68	79,36
30	3	27,54	80,25
30	4	28,48	80,49
40	1	32,91	84,84
40	2	33,41	86,95
40	3	33,61	87,86
40	4	33,96	88,34
50	1	32,98	89,02
50	2	33,97	90,12
50	3	34,63	90,61
50	4	33,99	91,27
60	1	31,62	89,63
60	2	31,60	89,33
60	3	31,09	89,13
60	4	30,83	88,76

3.1 Variabel Bentuk Sampel Kepingan / Flakes



Gambar 1 Profil Optimasi Proses untuk Variabel Flakes

Pada Gambar 1 di samping tersebut dapat dilihat bahwa jenis optimasi yang didapat adalah maksimasi, serta untuk nilai optimum akan didapat pada temperatur 47,1°C dan waktu 3,5 jam. Semakin tinggi temperatur maka akan terjadi peningkatan laju reaksi sehingga kadar yang dihasilkan juga akan semakin besar. Namun setelah mencapai titik tertentu peningkatan temperatur justru akan merusak pigmen karotenoid itu sendiri yang akan menyebabkan turunnya kadar hasil ekstraksi (Delia B. Rodriguez-Amaya and Mieko Kimura,2004). Waktu juga memiliki pengaruh terhadap hasil ekstraksi, semakin lama waktu ekstraksi maka waktu kontak antara pelarut dan sampel semakin lama, maka kadar yang diperoleh semakin besar, hal tersebut karena proses pelarutan karotenoid terjadi terus hingga pelarut menjadi jenuh.

Hasil pengolahan data dengan program STATISTICA 6 mendapatkan Koefisien Regresi yang tersaji pada tabel 2 sebagai berikut :

Tabel 2 Hasil Analisa Koefisien Regresi Variabel Bentuk Sampel Flakes

Faktor	Koefisien Regresi
Mean/ interc	-22,5737
(1) Temperatur (L)	2,2400
Temperatur (Q)	-0,0224
(2) Waktu (L)	2,5932
Waktu (Q)	-0,1287
1L by 2L	-0,0358

Dari koefisien regresi tersebut, didapat persamaan matematika

$$Y = -22,57 + 2,24x_1 + 2,59x_2 - 0,02x_1^2 - 0,13x_2^2 - 0,04x_1x_2 \quad (1)$$

Untuk menguji signifikansi persamaan model regresi/matematika pada persamaan (1) digunakan hipotesa H_0 dan H_1 serta tabel analisa varian (Tabel 3).

H_0 : semua parameter/ koefisien regresi mempunyai harga 0 (kecuali β_0).

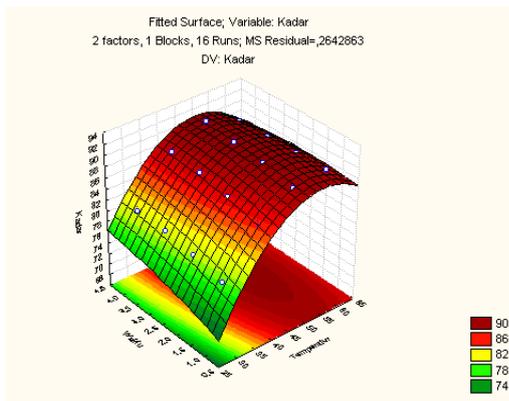
H_1 : paling sedikit 1 parameter/koefisien regresi tidak mempunyai harga 0

Tabel 3 Hasil Analisa Varian untuk Variabel Bentuk Sampel Kepingan/flakes

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Derajat kebebasan	Rata-rata kuadrat	Nilai F	$F_{\alpha=1\%}$
Regresi	120,06715	5	24,0134	91,04618	5,64
Residu	2,6375	10	0,26375		
Total	122,6815	15			

Harga F perhitungan adalah 91,04618. Sedangkan harga $F_{5,10}$ ($F_{p-1, N-p}$) pada tabel distribusi F dengan tingkat kepercayaan $\alpha = 1\%$ adalah 5,64. H_0 dinyatakan ditolak jika $F > F_{5,10}$. Ternyata F perhitungan lebih besar daripada F tabel sehingga H_0 dinyatakan ditolak yang berarti bahwa semua parameter/koefisien regresi tidak berharga 0. Dari data tersebut juga diperoleh $R^2 = 0,97838$ nilai tersebut mendekati satu sehingga dapat disimpulkan bahwa model matematika yang didapat signifikan dengan data percobaan.

3.2 Variabel Bentuk Sampel Serbuk



Gambar 2 Profil Optimasi Proses untuk Variabel Serbuk

Pada Gambar 2 di samping menunjukkan proses optimasi yang menggambarkan suatu kondisi maksimasi. Kenaikan temperatur menyebabkan peningkatan kadar karotenoid hasil ekstraksi. Hal tersebut dikarenakan peningkatan menyebabkan laju ekstraksi semakin tinggi. Kondisi maksimum untuk ekstraksi pada bentuk sampel serbuk terjadi pada temperature $51,9^\circ\text{C}$ dan waktu ekstraksi selama 3,4 jam. Setelah mencapai kondisi maksimum apabila pemanasan dilanjutkan maka akan terjadi dekomposisi pigmen karotenoid sehingga yang terjadi kadar karotenoid semakin turun (Delia B. Rodriguez-Amaya and Mieko Kimura, 2004). Semakin lama waktu ekstraksi akan menyebabkan kadar yang diperoleh semakin besar karena kontak antara pelarut dan sampel semakin lama sehingga akan terus terjadi proses pelarutan pigmen karotenoid kedalam pelarut n-hexane sampai pelarut mencapai kondisi jenuh. Hasil pengolahan data dengan program STATISTICA 6 mendapatkan Koefisien Regresi yang tersaji pada Tabel 4 sebagai berikut :

Tabel 4 Hasil Analisa Koefisien Regresi Variabel Bentuk Sampel Flakes

Faktor	Koefisien Regresi
Mean/ interc	24,9540
(3) Temperatur (L)	2,3272
Temperatur (Q)	-0,0212
(4) waktu (L)	3,2639
Waktu (Q)	-0,1994
1L by 2L	-0,0370

Dari koefisien regresi tersebut, didapat persamaan matematika

$$Y = 24,95 + 2,33 x_1 + 3,26 x_2 - 0,02 x_1^2 - 0,199x_2^2 - 0,04 x_1x_2 \quad (2)$$

Untuk menguji signifikansi persamaan model regresi/matematika pada persamaan (2) digunakan hipotesa H_0 dan H_1 serta tabel analisa varian (Tabel 5).

H_0 : semua parameter/ koefisien regresi mempunyai harga 0 (kecuali β_0).

H_1 : paling sedikit 1 parameter/koefisien regresi tidak mempunyai harga 0

Tabel 5 Hasil Analisa Varian untuk Variabel Bentuk Sampel Serbuk

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Derajat kebebasan	Rata-rata kuadrat	Nilai F	$F_{\alpha=1\%}$
Regresi	291,5003	5	58,3001	220,80847	5,64
Residu	2,6403	10	0,26403		
Total	294,35044	15			

Harga F perhitungan adalah 220,80847. Sedangkan harga $F_{5,10}$ ($F_{p-1, N-p}$) dengan tingkat kepercayaan $\alpha = 1\%$ adalah 5,64. Ternyata F perhitungan lebih besar daripada F tabel sehingga H_0 dinyatakan ditolak yang berarti bahwa semua parameter/koeffisien regresi tidak berharga 0. Dari data tersebut juga didapat nilai $R^2=0,99102$, nilai tersebut mendekati satu yang menunjukkan bahwa model matematika yang diperoleh signifikan dengan data percobaan,

3.3 Perbandingan Antara Kadar yang diperoleh pada Variabel Bentuk Sample Flakes dan Serbuk.

Melihat data seperti yang disajikan pada Tabel 1 dapat disimpulkan bahwa variabel bentuk sample serbuk akan menghasilkan kadar yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan bentuk sample flakes. Hal ini terkait dengan luas permukaan serbuk lebih besar jika dibanding dengan flakes, semakin luas permukaan sentuh antara solvent dengan sample maka proses ekstraksi berjalan semakin baik dan menandakan transfer masa pigmen karotenoid dari spirulina ke dalam solven semakin banyak, sehingga kadar yang diperoleh dalam bentuk sample serbuk juga semakin besar

4. Kesimpulan

Kadar optimum pada proses ekstraksi pigmen karotenoid dari spirulina untuk bentuk sampel flakes diperoleh pada kondisi temperatur 47,1°C dan waktu 3,5 jam. Sedangkan kadar optimum pada proses ekstraksi pigmen karotenoid dari spirulina untuk bentuk sampel serbuk diperoleh pada kondisi temperatur 51,9°C dan waktu 3,4 jam. Untuk variabel bentuk sampel didapat hasil bahwa variabel bentuk sample serbuk akan menghasilkan kadar yang lebih tinggi apabila dibandingkan dengan bentuk sample flakes.

Ucapan Terima Kasih

Pada kesempatan ini kami mengucapkan terima kasih kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala kasih dan anugerah-Nya, Bapak Dr. Ir. Abdullah, MS selaku Ketua Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Diponegoro, Bapak Indro Sumantri, M.Eng selaku dosen pembimbing, dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya penelitian ini hingga penyusunan laporan.

Daftar Pustaka

- Spolaore, P., Joanis-Casson, C., Duran, E., Isant, A., (1997), "Comercial Aplication of Micro Alga". Volume 101, journal of bioscience and bioenggenering
- Tripanji dan Suharyanto, 2001, "Optimization Media from Low-COH Nutrient Sources for Growing *Spirulina plantesis* and Carotenoid Production", Menara Perkebunan.
- Ahsan, M., Habiba, B., and Parvin, Mashuda (2008), "A Review On Culture, Production And Use Of *Spirulina* As Food For Humans And Feeds For Domestic Animals And Fish", FAO Fisheries and Aquaculture Circular, Rome.
- Henrikson, R, (2009), "Earth Food *Spirulina* How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet", Ronore Enterprises, Inc. , Hawaii, USA.
- Hsieh, L. K., Tung-Ching Lee, Chichester, C. O., And Simpson, K. L., (1974), "Biosynthesis of Carotenoids in *Brevibacterium* sp. KY-43131", *Journal Of Bacteriology*, Vol. 118, pp. 385-393
- Fraser, Paul D., and Bramley, Peter M., (2005) , "Methodologies for the Analysis of Fungal Carotenoids", DOI, Vol. 18, pp. 273-282
- Rodriguez-Amaya, Delia B., Kimura, Mieko., (2004), "HarvestPlus Handbook for Carotenoid Analysis", IFPRI and CIAT, pg 21-22, Washington.