

**PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP *YIELD* FIKOSIANIN,
YIELD KLOOROFIL, DAN *YIELD* BETA KAROTEN DALAM
PROSES EKSTRAKSI FIKOSIANIN DARI *Spirulina plantesis***

Laporan Penelitian

Disusun untuk memenuhi tugas akhir guna mencapai gelar sarjana dalam bidang Ilmu
Teknik Kimia

oleh:

Chelsea Steffiana

(2014620098)

Pembimbing:

Ir. YIP Arry Miryanti, M.Si.



**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN
BANDUNG
2018**

**PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP *YIELD* FIKOSIANIN,
YIELD KLOOROFIL, DAN *YIELD* BETA KAROTEN DALAM
PROSES EKSTRAKSI FIKOSIANIN DARI *Spirulina plantesis***

Laporan Penelitian

Disusun untuk memenuhi tugas akhir guna mencapai gelar sarjana dalam bidang Ilmu
Teknik Kimia

oleh:

Chelsea Steffiana

(2014620098)

Pembimbing:

Ir. YIP Arry Miryanti, M.Si.



**JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN
BANDUNG
2018**

LEMBAR PENGESAHAN



JUDUL : PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP *YIELD* FIKOSIANIN, *YIELD* KLOOROFIL, DAN *YIELD* BETA KAROTEN DALAM PROSES EKSTRAKSI FIKOSIANIN DARI *Spirulina plantesis*

CATATAN :

Telah diperiksa dan disetujui oleh :

Bandung, 16 Januari 2018

Pembimbing Utama

(Ir. YIP Arry Miryanti, M.Si..)

JURUSAN TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN



SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Chelsea Steffiana

NPM : 2014620098

Dengan ini menyatakan bahwa laporan penelitian dengan judul:

PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP *YIELD* FIKOSIANIN, *YIELD* KLOOROFIL, DAN *YIELD* BETA KAROTEN DALAM PROSES EKSTRAKSI FIKOSIANIN DARI *Spirulina plantesis*

adalah hasil pekerjaan saya sendiri, serta seluruh ide, pendapat, dan materi dari sumber lain, telah dikutip dengan cara penulisan referensi yang sesuai.

Pernyataan ini saya buat dengan benar dan jika pernyataan ini tidak sesuai dengan kenyataan maka saya bersedia menanggung sanksi sesuai peraturan yang berlaku.

Bandung, 9 Januari 2018

Chelsea Steffiana
(2014620098)

LEMBAR REVISI



JUDUL : PENGARUH JENIS PELARUT TERHADAP *YIELD* FIKOSIANIN, *YIELD* KLOOROFIL, DAN *YIELD* BETA KAROTEN DALAM PROSES EKSTRAKSI FIKOSIANIN DARI *Spirulina plantesis*

CATATAN :

Telah diperiksa dan disetujui oleh :

Bandung, 16 Januari 2018

Penguji

A blue ink signature of Ratna Frida Susanti, consisting of a large, stylized initial 'R' followed by a cursive name.

Ratna Frida Susanti, Ph.D.

A blue ink signature of Tony Handoko, featuring a large, stylized initial 'T' followed by a cursive name.

Tony Handoko, S.T.,M.T.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Kuasa, atas segala berkat dan penyertaannya, penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan judul “Pengaruh Jenis Pelarut terhadap *Yield* Fikosianin, *Yield* Klorofil, dan *Yield* Beta Karoten dalam Proses Ekstraksi Fikosianin dari *Spirulina plantesis*”. Penyusunan laporan penelitian ini merupakan salah satu syarat yang harus ditempuh untuk memperoleh gelar sarjana Ilmu Teknik Kimia di Universitas Katolik Parahyangan.

Penulis menyadari, bahwa dalam penyelesaian laporan penelitian ini, penulis telah mendapatkan banyak bimbingan, bantuan, dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ir. YIP Arry Miryanti, M.Si. selaku dosen pembimbing, yang telah banyak memberikan masukan, bimbingan, dan semangat kepada penulis selama proses penyelesaian laporan penelitian ini.
2. Orang tua penulis, yang senantiasa mendukung dan menyemangati penulis agar dapat menyelesaikan laporan penelitian ini.
3. Teman-teman penulis, yang senantiasa mendampingi dan menyemangati penulis dalam proses penyelesaian laporan penelitian ini.
4. Semua pihak lain yang turut serta membantu penulis dalam proses penyelesaian laporan penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa di dalam laporan penelitian ini masih terdapat banyak kekurangan dan kelemahan, dan percaya bahwa perubahan dan perbaikan merupakan hal yang harus selalu dilakukan. Oleh sebab itu, penulis dengan terbuka menerima segala kritik dan saran dari semua pihak, yang dapat menjadi sarana untuk perbaikan bagi laporan penelitian ini. Akhir kata, penulis berharap laporan penelitian ini dapat memberikan manfaat bagi penulis dan bagi semua orang yang membaca laporan penelitian ini, serta menjadi sumbangsih yang berarti bagi kemajuan ilmu pengetahuan dan kesejahteraan masyarakat.

Bandung, 9 Januari 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
LEMBAR REVISI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR GAMBAR.....	x
DAFTAR TABEL	xi
INTISARI.....	xii
ABSTRACT	xiii
BAB 1 PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tema Sentral Masalah	3
1.3 Identifikasi Masalah.....	3
1.4 Premis	3
1.5 Hipotesis	4
1.6 Tujuan Penelitian	4
1.7 Manfaat Penelitian	9
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....	10
2.1 Alga.....	10
2.1.1 Alga Hijau Biru (<i>Cyanobacteria</i>).....	10
2.2 <i>Spirulina</i> sp.....	12
2.2.1 Morfologi.....	13
2.2.2 Habitat Alami dan Pertumbuhan	15
2.2.3 Kandungan Nutrisi.....	16
2.2.4 Produksi <i>Spirulina</i>	27
2.2.5 Manfaat <i>Spirulina</i>	28
2.3 Ekstraksi.....	30
2.3.1 Ekstraksi Padat Cair	30
2.4 Analisis Pada Zat Warna.....	34
2.4.1 Fikosianin	34
2.4.2 Klorofil	37
2.4.3 Karotenoid	37
2.5 Penelitian-Penelitian tentang Ekstraksi Fikosianin dari <i>Spirulina</i> sp.....	38
BAB 3 BAHAN DAN METODE PENELITIAN.....	47

3.1	Bahan	47
3.2	Peralatan.....	47
3.3	Prosedur Penelitian	48
3.3.1	Persiapan Bahan	48
3.3.2	Penelitian Pendahuluan	50
3.3.3	Penelitian Utama	51
3.4	Rancangan Percobaan	52
3.5	Analisis	53
3.6	Lokasi Penelitian dan Jadwal Kerja.....	55
BAB 4	PEMBAHASAN	57
4.1	Persiapan Sampel.....	57
4.2	Penelitian Pendahuluan.....	57
4.2.1	Penentuan Lama Ekstraksi	58
4.2.2	Penentuan Perbandingan F:S (g/ml).....	59
4.3	Penelitian Utama.....	61
4.3.1	Analisis Kadar, Kemurnian, dan <i>Yield</i> Fikosianin	62
4.3.2	Analisis Kadar dan <i>Yield</i> Klorofil	66
4.3.3	Analisis Kadar dan <i>Yield</i> Beta Karoten	67
4.4	Hasil Penelitian Secara Keseluruhan	70
4.5	Analisis Tambahan	71
4.5.1	Analisis Aktivitas Antioksidan.....	71
4.5.2	Analisis Kestabilan.....	73
4.5.2.1	Analisis Kestabilan Suhu	74
4.5.2.2	Analisis Kestabilan pH	75
BAB 5	KESIMPULAN DAN SARAN.....	76
5.1	Kesimpulan	76
5.2	Saran	76
DAFTAR PUSTAKA	77
LAMPIRAN A PROSEDUR ANALISIS	80
A.1	Analisis Kadar Fikosianin.....	80
A.2	Analisis Kemurnian Fikosianin	80
A.3	Analisis <i>Yield</i> Fikosianin	81
A.4	Analisis Kadar Klorofil.....	81
A.5	Analisis Kadar Beta Karoten	82
A.6	Analisis Aktivitas Antioksidan	82
A.7	Uji Stabilitas	83

A.7.1	Uji Stabilitas terhadap pH	83
A.7.2	Uji Stabilitas terhadap Suhu	85
LAMPIRAN B	LEMBAR DATA KESELAMATAN BAHAN.....	86
B.1	Disodium Hidrogen Fosfat ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	86
B.2	Asam Klorida (HCl).....	86
B.3	Natrium Hidroksida (NaOH)	88
B.4	Metanol (CH_3OH).....	89
B.5	2,2-Difenil-1-Fikrilhidrazil (DPPH).....	90
B.6	Asam Sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$)	91
B.7	Sodium Sitrat Dihidrat ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).....	92
LAMPIRAN C	DATA PERCOBAAN DAN HASIL ANTARA	93
C.1	Persiapan Bahan.....	93
C.2	Penelitian Pendahuluan.....	93
C.3	Penelitian Utama.....	94
C.3.1	Analisis Kadar, Kemurnian, dan <i>Yield</i> Fikosianin	94
C.3.2	Analisis Kadar dan <i>Yield</i> Klorofil	95
C.3.3	Analisis Kadar dan <i>Yield</i> Beta Karoten	95
C.3.3.1	Kurva Standar	95
C.3.3.2	Kadar dan <i>Yield</i> Beta Karoten	95
C.4	Analisis Varian	96
C.4.1	Fikosianin	96
C.4.2	Klorofil	96
C.4.3	Beta Karoten	96
C.5	Analisis Tambahan	96
C.5.1	Analisis Aktivitas Antioksidan.....	96
C.5.2	Analisis Kestabilan.....	96
C.5.2.1	Analisis Kestabilan Suhu	96
C.5.2.2	Analisis Kestabilan pH	97
LAMPIRAN D	HASIL PERCOBAAN	98
D.1	Penelitian Pendahuluan.....	98
D.2	Penelitian Utama.....	98
D.3	Analisis Varian	98
D.4	Analisis Aktivitas Antioksidan	98
D.5	Analisis Kestabilan	99
LAMPIRAN E	GRAFIK.....	100
E.1	Penelitian Pendahuluan.....	100

E.2	Penelitian Utama.....	103
E.2.1	Fikosianin	103
E.2.2	Klorofil	104
E.2.3	Beta Karoten.....	105
E.3	Analisis Tambahan	107
E.3.1	Analisis Aktivitas Antioksidan.....	107
E.3.2	Analisis Kestabilan Fikosianin	107
E.3.2.1	Analisis Kestabilan Suhu	107
E.3.2.2	Analisis Kestabilan pH	108
LAMPIRAN F	CONTOH PERHITUNGAN.....	109
F.1	Penelitian Pendahuluan.....	109
F.2	Penelitian Utama.....	109
F.2.1	Fikosianin.....	109
F.2.2	Klorofil.....	111
F.2.3	Beta Karoten.....	112
F.3	Analisis Aktivitas Antioksidan	112

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Oscillatoria	11
Gambar 2.2 Dihé yang Dijual di Pasar Fort Lamy di Chad	12
Gambar 2.3 Spirulina platensis (a) dan Spirulina maxima (b)	14
Gambar 2.4 Struktur Fikobilisom	21
Gambar 2.5 Struktur Fikosianin.....	22
Gambar 2.6 Struktur Kimia Klorofil.....	23
Gambar 2.7 B-karoten dan Violaxanthin	25
Gambar 2.8 Pabrik Untuk Produksi S. maxima di Danau Texcoco.....	27
Gambar 2.9 Struktur DPPH dan Reaksinya dengan Antioksidan.....	36
Gambar 3.1 Bagan Pembuatan Larutan Buffer Fosfat	48
Gambar 3.2 Bagan Pembuatan Larutan Buffer Sitrat	49
Gambar 3.3 Bagan Pembuatan Larutan CaCl ₂	50
Gambar 3.4 Bagan Penentuan Lama Ekstraksi	50
Gambar 3.5 Bagan Penentuan Perbandingan F:S (g/mL)	51
Gambar 3.6 Bagan Penelitian Utama	52
Gambar 4.1 <i>Spirulina plantesis</i> bubuk.....	57
Gambar 4.2 Grafik Penentuan Lama Ekstraksi pada F:S 1:100 (g/ml)	58
Gambar 4.3 Warna Sampel Fikosianin Tiap Waktu	59
Gambar 4.4 Grafik Penentuan Lama Ekstraksi pada Berbagai F:S (g/ml)	59
Gambar 4.5 <i>Yield</i> Fikosianin pada Tiap Perbandingan F:S pada Jam ke-96	60
Gambar 4.6 Warna Fikosianin pada Tiap Perbandingan F:S pada Jam ke-96.....	61
Gambar 4.7 a. Campuran biomassa dengan pelarut setelah dikocok pada jam ke-0; b. Campuran biomassa dengan pelarut setelah 96 jam.....	62
Gambar 4.8 a. Sampel dalam Kuvet <i>Centrifuge</i> ; b. Hasil <i>Centrifuge</i> Disaring Menggunakan Kertas Saring	62
Gambar 4.9 Hasil Analisis <i>Yield</i> Fikosianin Pada Berbagai Pelarut.....	64
Gambar 4.10 Hasil Ekstrak Fikosianin dengan Berbagai Jenis Pelarut	65
Gambar 4.11 Hasil Analisis <i>Yield</i> Klorofil pada Berbagai Pelarut.....	66
Gambar 4.12 Kurva Standar Beta Karoten	68
Gambar 4.13 Hasil Analisis <i>Yield</i> Beta Karoten pada Berbagai Pelarut	69
Gambar 4.14 a. Sampel Fikosianin Dilarutkan pada Variasi Konsentrasi; b. Sampel Fikosianin pada Berbagai Konsentrasi Setelah Ditambah DPPH dan Diinkubasi	72
Gambar 4.15 Grafik Persen Inhibisi Masing-Masing Pelarut terhadap Konsentrasi(ppm).....	73
Gambar 4.16 Hasil Analisis Kestabilan Suhu	74
Gambar 4.17 Hasil Analisis Kestabilan pH	75
Gambar A.1 Bagan Penentuan Kadar Fikosianin	80
Gambar A.2 Bagan Penentuan Kemurnian Fikosianin	80
Gambar A.3 Bagan Penentuan Kadar Klorofil	81
Gambar A.4 Bagan Penentuan Kadar Beta Karoten	82
Gambar A.5 Bagan Penentuan Aktivitas Antioksidan.....	82
Gambar A.6 Bagan Uji Stabilitas Terhadap pH.....	84
Gambar A.7 Bagan Uji Stabilitas Terhadap Suhu	85

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Tabel Komposisi Kandungan Nutrisi pada <i>S. plantesis</i> dan <i>S. maxima</i>	16
Tabel 2.2 Tabel Komposisi Penyusun Asam Lemak pada <i>Spirulina maxima</i> dan <i>Spirulina platensis</i>	17
Tabel 2.3 Tabel Perbandingan Jumlah Protein pada <i>Spirulina sp.</i> dan Makanan Sumber Protein Lainnya.	19
Tabel 2.4 Tabel Komposisi Vitamin yang Terkandung Dalam <i>Spirulina sp.</i>	20
Tabel 2.5 Komposisi Zat Warna pada <i>Spirulina sp.</i>	20
Tabel 2.6 Komposisi Zat Warna pada <i>Spirulina sp.</i>	20
Tabel 2.7 Nilai Konstanta Dielektrik pada Beberapa Jenis Pelarut	33
Tabel 3.1 Komposisi Larutan Buffer Fosfat pH Tertentu	49
Tabel 3.2 Komposisi Larutan Buffer Sitrat pH Tertentu	49
Tabel 3.3 Tabel Matriks Percobaan	52
Tabel 3.4 Tabel ANOVA	53
Tabel 3.5 Tabel Jadwal Kerja	56
Tabel 4.1 Kadar dan <i>Yield</i> Fikosianin Tiap Waktu pada F:S 1:100 (g/ml)	58
Tabel 4.2 Tabel Kadar dan <i>Yield</i> Fikosianin pada Tiap Perbandingan F:S (g/ml) pada Jam ke-96	60
Tabel 4.3 Kadar, Kemurnian, dan <i>Yield</i> Fikosianin pada Berbagai Pelarut	63
Tabel 4.4 Perbandingan Kadar Fikosianin (mg/ml) pada Berbagai Penelitian.....	63
Tabel 4.5 Perbandingan <i>Yield</i> Fikosianin (mg/g) pada Berbagai Penelitian	64
Tabel 4.6 ANOVA <i>Yield</i> Fikosianin	65
Tabel 4.7 Kadar dan <i>Yield</i> Klorofil pada Berbagai Pelarut	66
Tabel 4.8 ANOVA <i>Yield</i> Klorofil	67
Tabel 4.9 Nilai Absorbansi Beta Karoten pada Berbagai Konsentrasi	68
Tabel 4.10 Kadar dan <i>Yield</i> Beta Karoten pada Berbagai Pelarut	68
Tabel 4.11 ANOVA <i>Yield</i> Beta Karoten.....	69
Tabel 4.12 Hasil Penelitian Secara Keseluruhan	70
Tabel 4.13 Nilai Absorbansi dan Persen Inhibisi Sampel Hasil Ekstraksi dengan Aquadest	71
Tabel 4.14 Persen Inhibisi Setiap Larutan pada Berbagai Konsentrasi	72
Tabel 4.15 Hasil Analisis Kestabilan Suhu	74
Tabel A.1 Komposisi Larutan Buffer Sitrat pH Tertentu	83
Tabel A.2 Komposisi Larutan Buffer Fosfat pH Tertentu	84

INTISARI

Spirulina plantesis merupakan spesies alga yang mengandung tiga jenis zat warna alami, yaitu fikosianin, klorofil, dan beta karoten. Fikosianin merupakan zat warna biru alami yang paling banyak ditemukan dalam *Spirulina plantesis* dan memiliki keunggulan dibandingkan zat warna biru alami lainnya karena mengandung antioksidan. Klorofil merupakan zat warna hijau alami, sedangkan beta karoten merupakan zat warna jingga alami. Tujuan penelitian ini adalah mempelajari pengaruh jenis pelarut terhadap *yield* fikosianin, *yield* klorofil, dan *yield* beta karoten dalam ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*. Manfaat penelitian ini adalah untuk menambah wawasan tentang bagaimana cara menghasilkan fikosianin yang diekstrak dari *Spirulina plantesis* dengan jenis pelarut yang digunakan.

Metode penelitian yang digunakan ada empat macam, yaitu persiapan bahan baku, penelitian pendahuluan, penelitian utama dan analisis. Variasi pelarut yang digunakan adalah CaCl₂, aquadest, buffer sitrat pH 5-6, dan buffer fosfat pH 7-9. Pada persiapan bahan baku, dibuat larutan CaCl₂, larutan *buffer* fosfat dengan pH 7,8 dan 9, serta larutan *buffer* sitrat dengan pH 5 dan 6. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh waktu ekstraksi dan perbandingan *feed:solvent* (F:S) yang akan digunakan pada penelitian utama. Pada penelitian utama dipelajari pengaruh variasi jenis pelarut terhadap perolehan fikosianin dari *Spirulina plantesis*. Suhu ekstraksi yang digunakan berkisar antara 4-10°C. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan model *fixed effect* dengan satu variabel, yaitu variabel jenis pelarut untuk penelitian utama. Analisis hasil penelitian yang dilakukan meliputi analisis kadar, kemurnian, dan *yield* fikosianin, kadar dan *yield* klorofil, kadar dan *yield* beta karoten, aktivitas antioksidan fikosianin, serta uji stabilitas fikosianin terhadap pH dan suhu.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tingkat kepercayaan 95%, jenis pelarut berpengaruh terhadap *yield* fikosianin, namun tidak berpengaruh terhadap *yield* klorofil dan *yield* beta karoten pada proses ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*. Selain itu, kondisi terbaik untuk ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis* diperoleh pada perbandingan F:S (*feed:solvent*) = 1:150 g/ml, selama 96 jam, menggunakan pelarut buffer fosfat pH 7, dengan *yield* fikosianin sebesar 49,9183 mg/g. Fikosianin yang dihasilkan stabil pada pH 5-7, suhu rendah (4-10°C), dan suhu ruang (25-28 °C).

Kata Kunci: fikosianin, klorofil, beta karoten, *Spirulina plantesis*

ABSTRACT

Spirulina plantesis is a species of algae containing three types of natural dyes, namely phycocyanin, chlorophyll, and beta-carotene. Phycocyanin is a natural blue dye found in *Spirulina plantesis* and has advantages over other natural blue dyes because it contains antioxidants. Chlorophyll is a natural green dye, while beta-carotene is a natural orange dye. The purpose of this study is to study the effect of solvent type on the *yield* of phycocyanin, the *yield* of chlorophyll, and the *yield* of beta-carotene in extracting phycocyanin from *Spirulina plantesis*. The benefit of this study is to add insight into how to produce phycocyanin extracted from *Spirulina plantesis* using various type of solvents.

The research method used consists of preparation of raw materials, preliminary research, main research and analysis. The solvent variations used were CaCl₂, aquadest, buffer citrate pH 5-6, and phosphate buffer pH 7-9. In preparation of raw materials, CaCl₂ solution, phosphate buffer solution with pH 7,8 and 9, and citrate buffer solution with pH 5 and 6 was made. Preliminary study was conducted to obtain the time of extraction and feed: solvent ratio to be used in the main research. In the main study, the effect of solvent type variation in extracting phycocyanin from *Spirulina plantesis* was studied. The extraction temperature used ranges from 4-10°C. The experiment design used was fixed effect model design with one variable, that was solvent type variable. The results of the study was analysed, including the analysis of the content, purity, and *yield* of phycocyanin, the content and *yield* of chlorophyll, the content and *yield* beta carotene, antioxidant activity of phycocyanin, and phycocyanin's stability againts temperature and pH.

The results showed that at 95% confidence level, solvent types affected the *yield* of phycocyanin, but did not affect the *yield* of chlorophyll and the *yield* of beta-carotene in extracting phycocyanin from *Spirulina plantesis*. In addition, the best conditions for extracting phycocyanin from *Spirulina plantesis* were obtained in the ratio of F:S= 1:150 g/ml, for 96 hours, using phosphate buffer pH 7 solvent, with the *yield* of phycocyanin of 49,9183 mg/g. The resulting phycocyanin is stable at pH 5-7, low temperature (4-10°C), and room temperature (25-28 °C).

Keywords: *phycocyanin, chlorophyll, beta-carotene, Spirulina plantesis*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Penampilan menentukan daya tarik suatu benda. Begitu pula dengan makanan. Makanan dengan tampilan yang menarik tentu akan membuat orang lebih tertarik untuk mencicipi dan membelinya. Oleh karena itu, pigmen atau zat warna banyak digunakan oleh produsen makanan untuk mewarnai makanannya agar lebih menarik. Selain itu warna-warna tertentu dikaitkan seseorang dengan persepsi cita rasa, misalnya warna merah seringkali identik dengan rasa pedas, merah muda untuk rasa stroberi, hijau untuk rasa melon, dan coklat untuk rasa coklat atau karamel.

Penggunaan pewarna makanan sudah diatur pemerintah mengenai batas keamanannya, namun masih saja ada pedagang yang menggunakan bahan pewarna berbahaya untuk makanan, misalnya pewarna tekstil yang merupakan pewarna sintetik dan mempunyai warna lebih cerah, dapat digunakan dalam konsentrasi kecil, dan harganya lebih murah. Contoh pewarna sintetik adalah rhodamine B (merah), Methanil Yellow (kuning), Tatrazine (kuning), Brilliant Blue (biru), dll.

Pewarna makanan alami merupakan bahan yang lebih sehat untuk mewarnai makanan karena berasal dari bahan-bahan alam, seperti tumbuhan. Jenis-jenis pewarna alami antara lain adalah betalain, karoten, klorofil, antosianin, fikosianin, dll. Sayangnya saat ini, pewarna alami masih jarang ditemukan karena ketersediannya yang terbatas dan warnanya yang tidak stabil sehingga tidak cocok untuk digunakan pada industri makanan dan minuman. Produksi pewarna alami juga membutuhkan biaya yang lebih besar dibandingkan dengan pewarna sintetik. Walaupun begitu, pewarna alami tetap harus dikembangkan karena kesehatan manusia jauh lebih penting sehingga perlu dikembangkan proses penyediaan pewarna alami yang murah.

Selain dari tanaman, pewarna alami juga dapat diperoleh dari spesies alga. Alga yang mampu menghasilkan zat warna salah satunya adalah *Spirulina* sp. *Spirulina* mengandung tiga jenis zat warna, yaitu fikosianin, karoten, dan fikosianin. Menurut Sedjati (2012), pigmen yang paling banyak terkandung pada *Spirulina* adalah fikosianin, hingga mencapai 20% dari berat keringnya. Pigmen fikosianin berwarna biru, dan dapat digunakan sebagai pewarna yang tidak berbahaya untuk makanan dan kosmetik. Perusahaan Dainippon Ink &

Chemicals (Sakura), bahkan telah mengembangkan produk dengan bahan dasar pigmen fikobiliprotein bernama Lina Blue. Produk ini telah diaplikasikan pada permen karet, permen, minuman ringan, *dairy product*, *ice sherberts*, *popsicles*, dan wasabi. Sebagai pewarna alami, pigmen fikosianin juga berpotensi menjadi pewarna untuk produk kosmetika yang bernilai jual tinggi. Contoh produk yang telah mereka kembangkan adalah *lipstick* dan *eyeliners*. (Candra, 2011)

Fikosianin merupakan pigmen yang termasuk ke dalam kelompok fikobiliprotein bersama dengan fikoeitrin dan alofikosianin. Fikosianin diketahui juga memiliki kemampuan mengobati sebagai antikanker dan meningkatkan respon imunitas. Seperti pewarna alami lainnya, fikosianin juga tidak selalu stabil. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Sarada, warna biru pada fikosianin relatif stabil pada suhu ruang (25 ± 2 °C) dan suhu rendah (9 ± 1 °C). Pada suhu 45 °C, fikosianin akan mulai kehilangan warnanya, sedangkan pada suhu 50 °C, fikosianin sudah tidak dapat dideteksi lagi kandungannya. (Sarada, et al., 1999)

Fikosianin merupakan pigmen dengan nilai jual yang tinggi. Harga fikosianin yang dijual oleh Sigma-Aldrich (www.sigmaaldrich.com) mencapai SG\$ 187,95 (Rp 1.879.500 dengan kurs 1 SGD = 10.000 IDR) per mg. Jika dibandingkan, Spirulina bubuk yang dijual oleh Neoalgae (stokis-neoalgae.com/) hanyalah Rp 125.000 per 50 gram. Maka dari itu perlu dikembangkan cara untuk dapat mengekstraksi fikosianin dari Spirulina dengan harga yang terjangkau sehingga dapat digunakan oleh masyarakat luas.

Hingga saat ini belum banyak perusahaan yang memproduksi fikosianin. Hal ini mungkin saja disebabkan oleh harga jual fikosianin yang tinggi menyebabkan sedikitnya orang yang tertarik untuk membeli fikosianin. Pada penelitian ini, akan dilakukan ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis* menggunakan metode maserasi. Ekstraksi dilakukan untuk mengetahui pengaruh variasi jenis pelarut *yield* fikosianin, *yield* klorofil, dan *yield* beta karoten pada fikosianin untuk menemukan kondisi optimum bagi ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*. Selain itu, akan dilakukan pula uji aktivitas antioksidan dan kestabilan fikosianin pada pH dan suhu tertentu.

1.2 Tema Sentral Masalah

Ketidakjelasan dan ketidakpastian mengenai pengaruh jenis pelarut terhadap *yield* fikosianin, *yield* klorofil, dan *yield* beta karoten dalam proses ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*.

1.3 Identifikasi Masalah

Bagaimana pengaruh variasi jenis pelarut terhadap *yield* fikosianin, *yield* klorofil, dan *yield* beta karoten dalam proses ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*?

1.4 Premis

- a. Kondisi terbaik untuk ekstraksi fikosianin adalah dengan pelarut sodium buffer fosfat pH 7 pada suhu 25°C, selama empat jam, dan dengan F:S (*feed:solvent*) = 1:12,5 g/mL. (Silveira, et al., 2007)
- b. Kondisi terbaik untuk melakukan ekstraksi fikosianin adalah pada pH= 7. Semakin tinggi suhunya, maka laju ekstraksinya makin cepat. Konsentrasi fikosianin terbesar diperoleh pada suhu 30 °C, sedangkan konsentrasi akan mengalami penurunan pada suhu 60 °C. (Chia, et al., 2014)
- c. Konsentrasi dan kemurnian fikosianin paling besar diperoleh pada F:S= 1:15. Konsentrasi maksimum fikosianin diperoleh pada suhu ekstraksi 25 °C, dan waktu ekstraksi selama 24 jam. Kemurnian maksimum fikosianin diperoleh pada suhu ekstraksi 4 °C, dan waktu ekstraksi selama 48 jam. (Pan-utai, et al., 2014)
- d. Pelarut buffer fosfat menghasilkan *yield* paling banyak (60,51±0,11 mg/g sampel), kemurnian yang lebih tinggi (1,74 ± 0,03). Akan tetapi aktivitas antioksidan pada ekstrak dengan aquadest lebih kuat (IC₅₀ = 110,8 ppm). (Ridlo, et al., September 2015)
- e. F:S = 1:125 menghasilkan konsentrasi fikosianin paling banyak. Hal ini ditandai dengan nilai absorbansinya paling tinggi sebelum mengalami penurunan akibat kejenuhan larutan. (Candra, 2011)
- f. Waktu optimum untuk melakukan ekstraksi adalah 48 jam. Metode yang paling baik adalah *freezing dan thawing* karena menghasilkan konsentrasi dan *yield* yang paling besar. (Sivasankari, et al., 2014)
- g. Walaupun metode homogenisasi dengan mortar dan alu menghasilkan *yield* terbesar, saat diukur absorbansinya terjadi puncak pada panjang gelombang 678 nm, yang mendakan adanya kontaminasi dengan klorofil. Oleh karena itu, metode paling baik untuk

mendapatkan ekstrak fikosianin yang murni adalah dengan metode *freezing and thawing*. (Sarada, et al., 1999)

Tabel premis disajikan pada halaman selanjutnya.

1.5 Hipotesis

Jenis pelarut berpengaruh terhadap *yield* fikosianin, *yield* klorofil, dan *yield* beta karoten dalam proses ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*. Dengan pelarut yang sesuai maka akan meningkatkan *yield* fikosianin, *yield* klorofil, dan *yield* beta karoten.

1.6 Tujuan Penelitian

- a. Mempelajari pengaruh jenis pelarut terhadap *yield* fikosianin dalam proses ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*.
- b. Mempelajari pengaruh jenis pelarut terhadap *yield* klorofil dalam proses ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*.
- c. Mempelajari pengaruh jenis pelarut terhadap *yield* beta karoten dalam proses ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*.

Peneliti	Bahan	Pelarut	pH ekstraksi	Suhu ekstraksi (°C)	F:S (g/mL)	Waktu ekstraksi (jam)	Metode	Analisis	Hasil
(Silveira, et al., 2007)	<i>Spirulina platensis</i>	Aquadest, larutan buffer sodium fosfat 10 mM (pH 7), larutan buffer sodium asetat 10mM (pH 5), larutan NaCl 0,15 M, dan larutan CaCl ₂ 10 g/L.	-	30	1:25	24, 48, 72	Maserasi pada <i>rotary shaker</i>	Ekstrak fikosianin disentrifugasi dan supernatannya diukur absorbansinya pada $\lambda= 280$ dan 615 nm	Pelarut buffer fosfat pH 7 menghasilkan konsentrasi fikosianin paling banyak sebesar 4,2 mg/mL. Setelah itu diikuti oleh aquadest (3,73 mg/mL), CaCl ₂ (3,48 mg/mL), NaCl (3,32 mg/mL), dan paling sedikit adalah menggunakan buffer asetat pH 5 (1,84 mg/mL).
		Aquadest	-	20; 23,6; 32,5; 41,4; 45	1:100; 1:49,5; 1:22,2; 1:14,33; 1:12,5	0, 4, 10, 24, dan 30	Maserasi pada <i>rotary shaker</i> pada 100 rpm	Ekstrak fikosianin disentrifugasi dan supernatannya diukur absorbansinya pada $\lambda= 615$ dan 652 nm	F:S = 1:12,5 menghasilkan <i>yield</i> terbesar yaitu 46,8 mg/g. Variabel yang paling berpengaruh pada konsentrasi fikosianin adalah F:S. Kondisi terbaik untuk ekstraksi fikosianin adalah pada suhu 25°C, selama empat jam, dan dengan F:S = 1:12,5 g/mL. Kondisi ini memungkinkan hasil ekstraksi fikosianin dengan konsentrasi 3,68 mg/mL dan tingkat kemurnian (A615/A280) sebesar 0,46.
(Pan-utai, et al., 2014)	<i>Spirulina platensis</i>	10 mM sodium phosphate buffer (pH 7)	-	25, 4, -20	1:15, 1:25, 1:50	12, 24, 48	Maserasi	Ekstrak fikosianin disentrifugasi dan diukur absorbansinya pada $\lambda= 280, 615,$ dan 652 nm.	Konsentrasi dan kemurnian fikosianin paling besar diperoleh pada F:S= 1:15, yaitu masing-masing sebesar 6,88 mg/mL dan 3,83. Konsentrasi maksimum fikosianin diperoleh pada suhu ekstraksi 25 °C, dan waktu ekstraksi selama 24 jam. Kemurnian maksimum fikosianin diperoleh pada suhu ekstraksi 4 °C, dan waktu ekstraksi selama 48 jam.

Peneliti	Bahan	Pelarut	pH ekstraksi	Suhu ekstraksi (°C)	F:S (g/mL)	Waktu ekstraksi (jam)	Metode	Analisis	Hasil
(Chia, et al., 2014)	<i>Spirulina platensis</i>	Larutan buffer sodium fosfat (10 mM, pH 7)	5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5;8	50	1:20	50, 100, 150, 200, 240 (menit)	Maserasi di dalam erlenmeyer 125 ml bertutup yang dilengkapi dengan <i>magnetic stirrer</i> .	Ekstrak fikosianin disentrifugasi dan diukur absorbansinya pada $\lambda = 615$ dan 652 nm menggunakan Ultrospec 3100 pro spectrophotometer.	pH 7 menghasilkan konsentrasi fikosianin paling banyak sebesar 2,2 g/L. Pada pH 8 konsentrasi fikosianin menurun akibat terjadinya denaturasi protein.
			7	30, 35, 40, 45, 50, 60					Semakin tinggi suhunya, maka laju ekstraksinya makin cepat. Konsentrasi fikosianin terbesar diperoleh pada suhu 30 °C, sedangkan konsentrasi akan mengalami penurunan pada suhu 60 °C.
(Candra, 2011)	<i>Spirulina fusiformis</i>	Buffer fosfat 100 mM (pH 7)	7	10	1:5; 2:5; 3:5; 4:5; 5:5; 6:5; 7:5; 8:5; 9:5; 10:5	24	<i>Freezing and thawing</i>	Ekstrak disentrifugasi dengan kecepatan minimum 3500 rpm selama 5 menit pada suhu 10 °C, lalu supernatannya diukur absorbansi pada panjang gelombang 620 nm, dengan buffer fosfat sebagai blanko.	F:S = 4:5 (80 mg biomassa dalam 10 ml pelarut) menghasilkan konsentrasi fikosianin paling banyak. Hal ini dikarenakan nilai absorbansinya paling tinggi sebelum mengalami penurunan akibat kejenuhan.
(Ridlo, et al., September 2015)	<i>Spirulina</i> sp.	Aquadest dan Buffer Fosfat pH 7	-	-	1:100	48	<i>Freezing and thawing</i>	Ekstrak fikosianin disentrifugasi pada 3000 rpm selama 30 menit, dan diukur absorbansinya pada $\lambda = 280, 615,$ dan 652 nm.	Pelarut buffer fosfat menghasilkan <i>yield</i> paling banyak ($60,51 \pm 0,11$ mg/g sampel), kemurnian yang lebih tinggi ($1,74 \pm 0,03$). Akan tetapi aktivitas antioksidan pada ekstrak dengan aquadest lebih kuat ($IC_{50} = 110,8$ ppm).

Peneliti	Bahan	Pelarut	pH ekstraksi	Suhu ekstraksi (°C)	F:S (g/mL)	Waktu ekstraksi (jam)	Metode	Analisis	Hasil
(Sivasankari, et al., 2014)	<i>Spirulina platensis</i>	-	9,5	4	-	24, 48, 72	<i>Freezing and thawing</i>	Sampel fikosianin kemudian disentrifugasi pada 5000 rpm selama 15 menit kemudian supernatannya diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-VIS	Yield= 0,76 mg/g; Kadar= 0,38 mg/mL.
		50 mM fosfat buffer pH 6,8	9,5	Suhu ruang	-		Homogenisasi dengan mortar dan alu		Yield= 0,12 mg/g; Kadar= 0,06 mg/mL.
		Sodium buffer fosfat pH 7	7		-		Maserasi		Yield= 0,5 mg/g; Kadar= 0,25 mg/mL.
		12 M HCl	1,2		1:2				Yield= 0,136 mg/g; Kadar= 0,068 mg/mL.
		1 M Asam asetat	1,2		1:2				Yield= 0,572 mg/g; Kadar= 0,286 mg/mL.
		-	9,5		-		-		Sonikasi (diberi gelombang suara) pada 50 kHz di dalam <i>ultrasonic bath</i> selama 30 menit.

Waktu optimum untuk melakukan ekstraksi adalah 48 jam. Metode yang paling baik adalah freezing dan thawing karena menghasilkan konsentrasi dan *yield* yang paling besar.

Peneliti	Bahan	Pelarut	pH ekstraksi	Suhu ekstraksi (°C)	F:S (g/mL)	Waktu ekstraksi (jam)	Metode	Analisis	Hasil	
(Sarada, et al., 1999)	<i>Spirulina</i> sp	Aquadest	-	Suhu ruang	-	2, 4, 24	Maserasi	Ekstrak fikosianin disentrifugasi dan supernatannya diukur absorbansinya pada $\lambda = 615$ dan 652 nm	Yield= 19,26 mg / 100 mg berat kering biomassa	Walaupun metode homogenisasi dengan mortar dan alu menghasilkan <i>yield</i> terbesar, saat diukur absorbansinya terjadi puncak pada panjang gelombang 678 nm, yang mendakan adanya kontaminasi dengan klorofil. Oleh karena itu, metode paling baik untuk mendapatkan ekstrak fikosianin yang murni adalah dengan metode <i>freezing and thawing</i> .
		HCl (2, 4, 6, 8, 10 N)	-						Paling baik pada konsentrasi 8-10 N	
		50 mM sodium phosphate buffer pH 6,8	6,8	-			Homogenisasi dengan mortar dan alu		Yield= 19,84 mg / 100 mg berat kering biomassa	
		51 mM sodium phosphate buffer pH 6,8	6,8	9			Homogenisasi dengan <i>Virtimixer</i> dengan variasi kecepatan 5, 10, 20, 100 rpm selama 10 menit.		Yield= 19,02 mg / 100 mg berat kering biomassa	
		52 mM sodium phosphate buffer pH 6,8	6,8	-			<i>Freezing and thawing</i>		Yield= 19,47 mg / 100 mg berat kering biomassa	

1.7 Manfaat Penelitian

Bagi Peneliti:

- a. Menambah wawasan peneliti mengenai ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*.
- b. Meningkatkan kemampuan peneliti dalam menentukan kondisi optimum untuk mengekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis*.

Bagi Industri :

- a. Memberikan informasi bagi industri mengenai faktor-faktor yang dapat mempengaruhi *yield* fikosianin, *yield* klorofil, dan *yield* beta karoten pada ekstraksi fikosianin dari *Spirulina plantesis* pada skala laboratorium, agar dapat diaplikasikan dalam produksi pada skala industri.

Bagi Pemerintah:

- a. Memberikan masukan bagi pemerintah untuk mengembangkan industri pewarna fikosianin alami, terutama dari *Spirulina plantesis*.
- b. Memberikan solusi alternatif bagi pemerintah mengenai sumber pewarna alami untuk menggantikan pewarna sintetik yang tidak baik untuk kesehatan masyarakat apabila digunakan pada makanan.