

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

Bakti Jos *, Prayudi Eko Setyawan, Yudha Satria **)

Abstract

The growing awareness of the importance of natural colours especially food and cosmetic colorants has placed great demand on biological sources of natural colours. It is for this reason that the phycobiliproteins in *Spirulina platensis* is gaining increasing attention as an alternative colour for these products. Numerous scientific reports confirm the fact that Phycocyanin from *Spirulina platensis*, is not only an effective natural blue colorant, but also a compound that is beneficial to the health of the consumer. 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 yield. The 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

Key words : Liquid-liquid extraction; Phycocyanin; *Spirulina*

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 protein lebih baik daripada satu acre kedelai atau jagung dan 200 kali lebih baik daripada daging sapi. *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, farmasi, 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.

Dari hasil penelitian sebelumnya 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 ma-

kanan dan kosmetik. Kandungan *phycocyanin* dalam 10 gram *Spirulina* kering juga termasuk cukup tinggi yaitu 1400 mg atau sekitar 14% (Henrikson, 2000).

Berdasarkan penelitian (Boussiba dan Richmond 1979) 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. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *phycocyanin* dari *Spirulina* dengan teknik ekstraksi menggunakan beberapa pelarut polar, mengetahui pengaruh konsentrasi pelarut polar yang digunakan terhadap laju ekstraksi *phycocyanin* dan uji stabilitas warna dengan metode spektrofotometri untuk mengetahui pengaruh berbagai kondisi lingkungan terhadap kestabilan zat warna *phycocyanin*.

Bahan dan Metode Penelitian

Pada penelitian ini, *Spirulina platensis* didapat 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. Penelitian dilakukan pada bulan November 2010 – Januari 2011 dan dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Industri dan Laboratorium Bioproses Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Ruang lingkup penelitian ini meliputi penyiapan bahan baku, ekstraksi *phycocyanin*, uji kelarutan dan uji kestabilan zat warna.

Rancangan penelitian dimulai dengan menghaluskan *Spirulina* hingga ukuran 140 mesh, 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 pada-

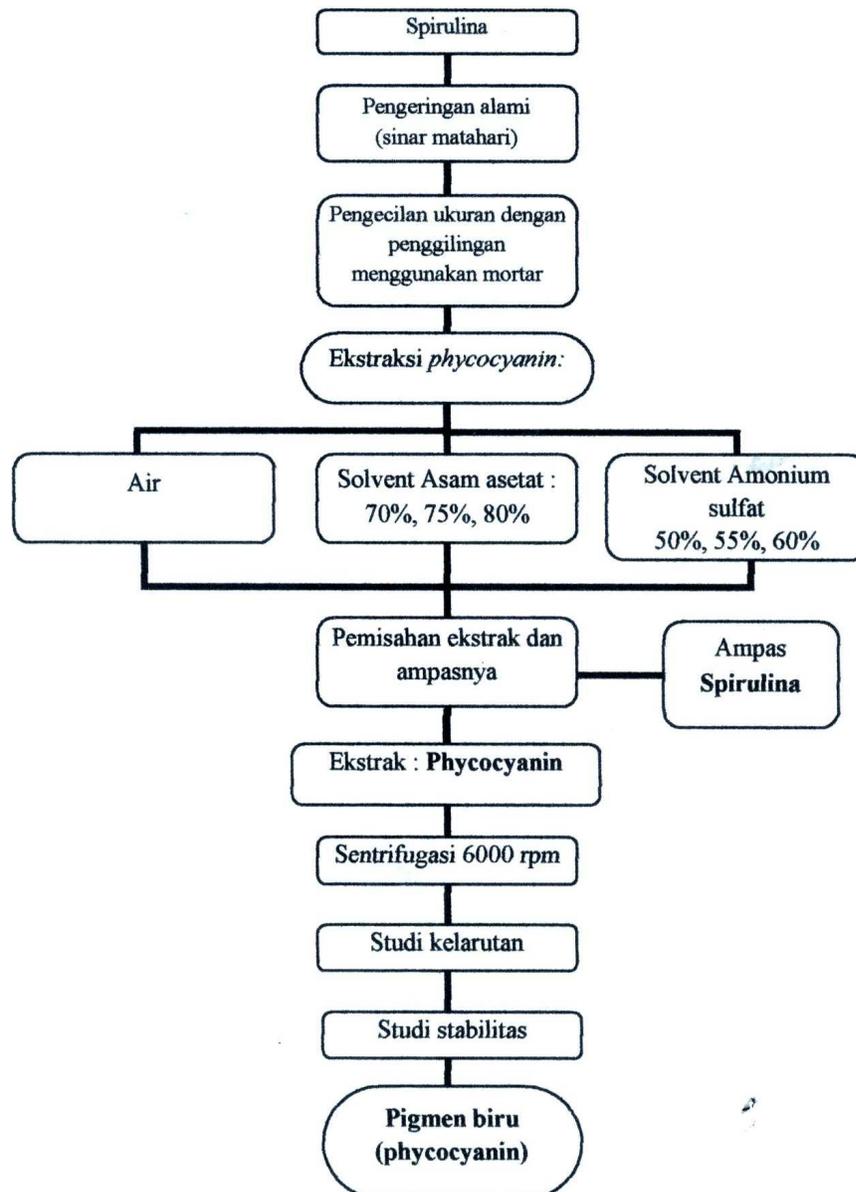
*) Staf Pengajar Jurusan Teknik Kimia
Fakultas Teknik Universitas Diponegoro

tan yang dibuang dan bagian cairan dicampurkan dengan solvent sesuai dengan variabel. Variabel berubah yaitu asam asetat 70%, 75%, dan 80% ammonium sulfat 50%, 55%, dan 60%, dan air. Hasil ekstraksi kemudian disentrifugasi kembali dengan kecepatan 6000 rpm selama 60 menit dan kemudian disaring dengan kertas saring. 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 pengaruh lingkungan meliputi pengaruh temperatur dan pH. 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 refrigetator ($14^\circ\text{C} - 17^\circ\text{C}$). Hasil uji kelarutan dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri. Ekstrak *phycocyanin* yang telah diuji kelarutannya terhadap temperatur disimpan selama 8 hari untuk diuji kesetabilannya. Setelah interval waktu 24 jam, konsentrasi *phycocyanin* diukur absorbansinya. Dalam penelitian ini, semua eksperimen dibuat rangkap tiga (triplikat).

Prosedur percobaan secara sistematis digambarkan pada gambar 1.



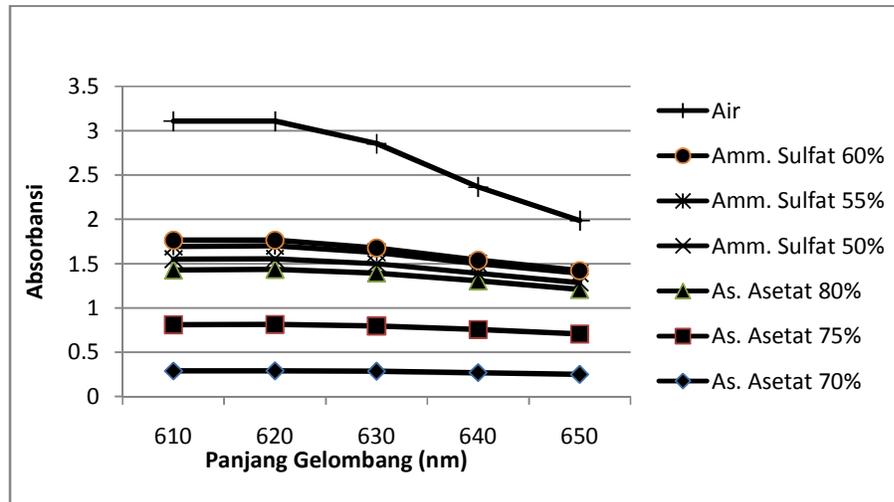
Gambar 1 Prosedur Percobaan

Hasil dan Pembahasan

1. Ekstraksi *Phycocyanin*

Pada ekstraksi zat warna biru (*phycocyanin*) dari mikroalga *Spirulina platensis* dengan menggunakan pelarut asam asetat 70%, 75%, 80%, amoni-

um 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. Pengaruh pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi *phycocyanin* terhadap absorbansi dan panjang gelombang

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.

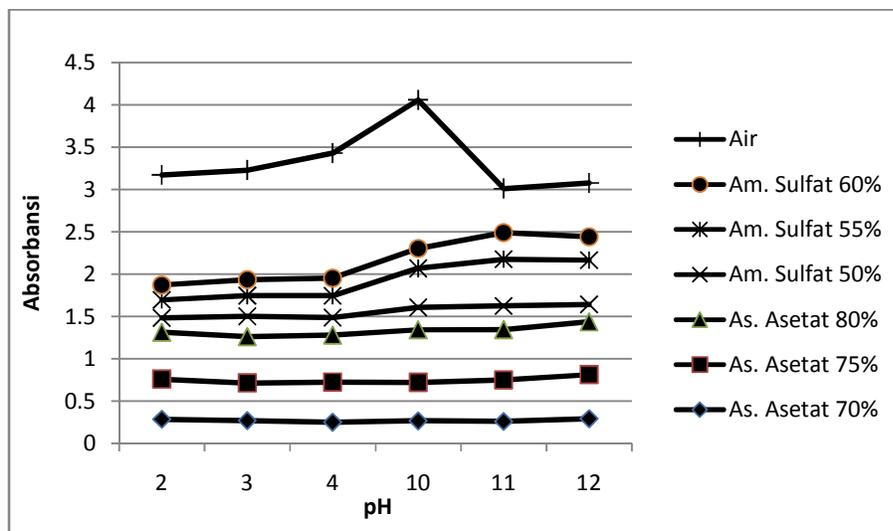
Berdasarkan penelitian Arlyza (2005) diketahui bahwa biomassa sel *Spirulina platensis* akan jauh lebih mudah larut dalam pelarut polar, seperti pada air dan larutan penyangga (*buffer*) bila di-

bandingkan 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.

2. Studi kelarutan *Phycocyanin*

Pengaruh pH terhadap stabilitas zat warna *Phycocyanin*

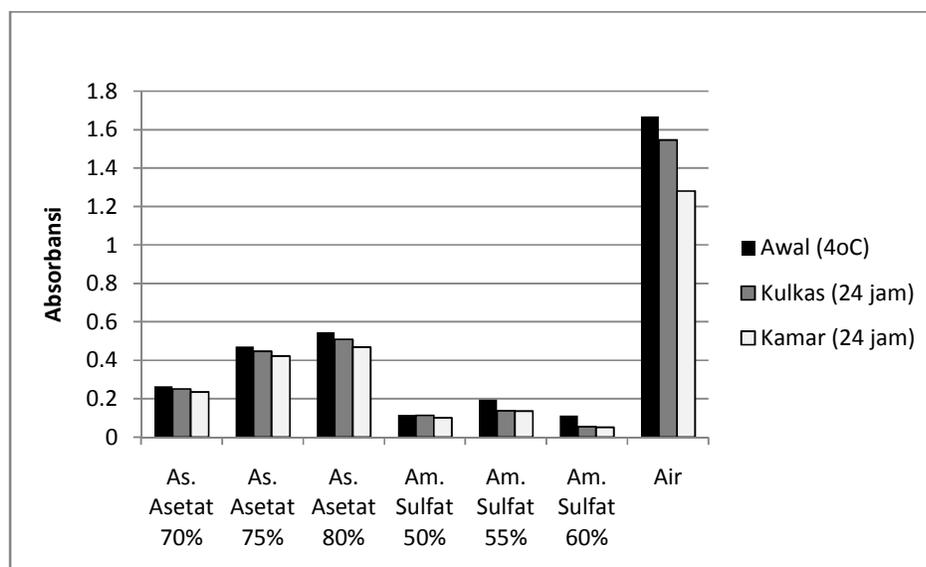
Hasil pengamatan pada pH yang berbeda memperlihatkan adanya kenaikan serapan (absorbansi) dengan meningkatnya pH seperti yang ditunjukkan pada grafik gambar 3. Kondisi pH sangat mempengaruhi intensitas warna, seperti pada penelitian Duangsee (2009) dimana semakin rendah pH semakin kecil serapan yang dihasilkan. *Phycocyanin* yang secara struktur molekul mengembang diakibatkan oleh protein (*phycobiliprotein*) yang menggumpal dan mengendap sehingga menyebabkan intensitas warna dan pembacaan absorbansi menurun. Semakin rendah pH, semakin tinggi terjadinya endapan yang menyebabkan reduksi absorben. (Duangsee, 2009).



Gambar 3. Hubungan pengaruh pH terhadap absorbansi zat warna pada penggunaan berbagai pelarut

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. Pengaruh temperature penyimpanan terhadap absorbansi zat warna pada penggunaan berbagai pelarut (λ=620 nm)

Hasil penelitian Doke (2005) menunjukkan selama melakukan uji stabilitas mengindikasikan bahwa ekstrak *phycocyanin* lebih stabil selama lebih dari 4 bulan ketika disimpan pada temperatur rendah (4°-9°C). *Phycocyanin* bersifat seperti protein lainnya dimana pada temperatur kamar dapat dimanfaatkan. *Phycocyanin* yang terdapat

di dalam struktur *phycobilisome* hanya akan terpecah pada temperatur diatas 70°C yang ditunjukkan pada pengukuran absorpsi dan penampakan warna secara fisik (Adir, 2001). Hal yang sama diungkapkan oleh Sarada (1999) dimana efek temperatur pada stabilitas warna biru mengindikasikan bahwa *phycocyanin* sangat tidak

stabil pada temperatur 45°C atau lebih, diatas 30°C warna biru berangsur-angsur memudar, dan cukup stabil pada suhu 10°C dan 4°C untuk waktu yang lama.

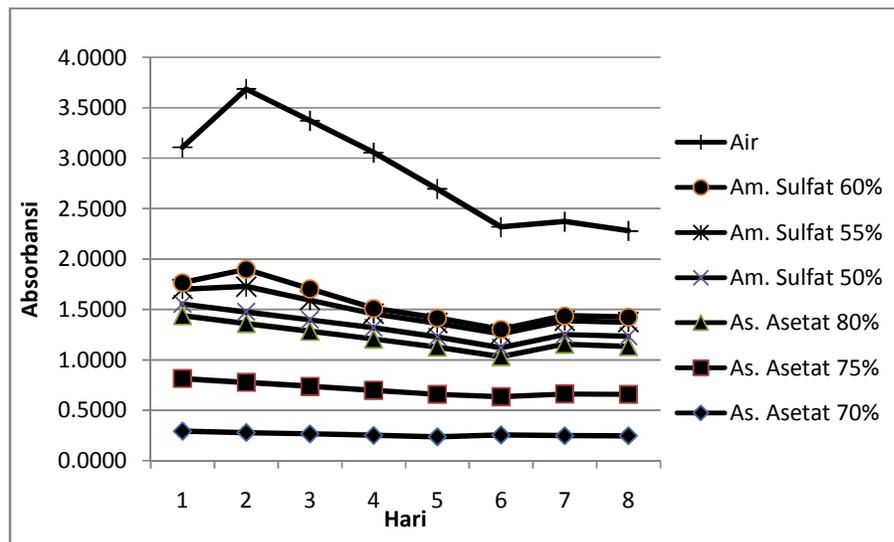
Bagaimanapun juga efek temperatur tetap memiliki pengaruh terhadap kestabilan warna. Seperti pada penelitian Duangsee (2009) dimana absorbansi menunjukkan penurunan dikarenakan kenaikan temperatur akan tetapi tidak begitu signifikan hingga temperatur 68° C pada pH 4-5. Phycocyanin yang secara struktur molekul mengembang diakibatkan oleh protein (*phycobiliprotein*) yang menggumpal oleh kenaikan temperatur.

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*.

3. 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. Hal ini disebabkan adanya sinar matahari yang mengakibatkan pigmen mengalami degradasi sewaktu melakukan pengamatan spektrofotometri terhadap sampel.



Gambar 5. Hubungan lama penyimpanan terhadap absorbansi zat warna pada penggunaan berbagai pelarut ($\lambda=620$ nm)

Intensitas cahaya sangat diperlukan oleh mikroalga dalam proses fotosintesis karena dapat mengubah energi cahaya menjadi energi kimia dalam bentuk biomassa berupa protein, karbohidrat, lemak, pigmen dan sebagainya. Mikroalga *Spirulina platensis* merupakan mikroalga obligat fototrofik artinya tanpa cahaya selnya tidak mampu melakukan fotosintesis dan akhirnya mati. Penelitian Diharmi (2001) menunjukkan intensitas pencahayaan dan lama pencahayaan sangat berpengaruh nyata terhadap kandungan pigmen bioaktif *phycocyanin*.

Berdasarkan uji kelarutan berdasarkan pH dan temperatur yang telah dilakukan menghasilkan kesimpulan bahwa *phycocyanin* stabil pada tem-

peratur rendah untuk waktu yang lama di dalam kondisi pH basa.

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 Tuhan Yang Maha Esa atas nikmat yang telah diberikan-Nya. Program PKM Penelitian 2011 Dirjen Dikti Republik Indonesia yang telah membiayai penelitian ini. Tidak lupa semua pihak yang telah banyak membantu terselesainya laporan penelitian ini.

Daftar Pustaka

4. Adir, Noam; Yelena Dobrovetsky; dan Natalia Lerner (2001). Structure of C-Phycocyanin from the Thermophilic Cyanobacterium *Synechococcus vulcanus* at 2,5 Å : Structural Implications for Thermal Stability in Phycobilisome Assembly. *Academic Press J. Mol. Biol.* (2001) 313, 71±81
5. Arlyza, I.S. (2005). Isolasi Pigmen Biru Phycocyanin dari Mikroalga *Spirulina platensis*. *Oseanologi dan Limnologi* ISSN 0125-9830 No.38 : 79-92
6. Boussiba, S dan Richmond, A. (1979). Isolation and Purification of Phycocyanin from the Blue Green Alga *Spirulina platensis*. *Arch. Microbiol* 120:155-159
7. Diharmi, A. (2001). Pengaruh pencahayaan terhadap kandungan pigmen bioaktif mikroalga *Spirulina platensis* strain lokal (INK). Tesis S2 Program Pascasarjana IPB-Bogor.
8. Doke, J.M. (2005). An Improved and Efficient Method for the Extraction of Phycocyanin from *Spirulina* sp. Berkeley Electronic Press DOI: 10.2202/1556-3758.1037
9. 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.
10. Henrikson, R. (2000). Earth food *Spirulina*. Essential Fatty Acids and Phytonutrients. Ronore Enterprises, Inc. California. [http:// www. Spirulina source. com / earthfoodch2b.html](http://www.SpirulinaSource.com/earthfoodch2b.html)
11. 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.
12. Kozlenko, R dan Henson, R.H. (1998). Latest scientific research on *Spirulina*: Effects on the AIDS virus, cancer and the immune system. <http://www.SpirulinaSource.com/earthfoodch2b.html>
13. Landau, M. (1992). Introduction to aquaculture. JhonWiley & Sons.Inc. Canada:76-79.
14. Perry, R. (1999). Perry's Chemical Engineering Handbook, Mc-Graw Hill. Inc
15. Romay, CH. (2003). C-Phycocyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects. *Current Protein and Peptide Science*, 2003, 4, 000-000.
16. Sarada, R; Pillai MG; dan Ravishankar GA. (1999). Phycocyanin from *Spirulina* sp : Influence of Processing of Biomass on Phycocyanin Yield, Analysis of Efficacy of Extraction Methods and Stability Studies on Phycocyanin. *Process Biochemistry* 34 (1999) 795–801 Elsevier Science
17. Weil, A. (2000). Green food *Spirulina*, Blue-green algae and *Chlorella*. [http:// www. wellness. com](http://www.wellness.com)

