

## 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pigmen atau zat pewarna merupakan suatu bagian yang penting dalam industri pangan dan non pangan karena dapat menentukan penerimaan produk oleh konsumen dan berperan sebagai salah satu indikator mutu produk pangan serta non pangan. Industri pangan dan non pangan di Indonesia berkembang cepat dan penggunaan pigmen juga meningkat. Pigmen sintetis umumnya lebih banyak digunakan karena mudah didapat, mudah digunakan, memiliki warna yang lebih menarik dibandingkan pewarna alami serta memiliki stabilitas yang tinggi. Namun penggunaan pigmen sintetis yang berlebihan dan kurang terkontrol dapat menimbulkan dampak yang tidak baik bagi kesehatan karena pigmen sintetis seperti tatzazin, allura red dan rhodamin B bersifat karsinogenik serta dapat menyebabkan alergi hingga penyakit kanker. Selain itu, produk pangan sering menggunakan pigmen yang *non food grade* untuk memberi warna pada produknya (Mohammad 2007).

Salah satu mikroalga yang menghasilkan pigmen merah adalah *P. cruentum*. Saat ini, pemanfaatan *P. cruentum* belum optimal jika dibandingkan dengan mikroalga yang lainnya seperti *Spirulina P. cruentum* merupakan alga yang kaya akan sumber phycoerythrin. Phycoerythrin merupakan pigmen alami yang banyak digunakan sebagai pewarna dalam makanan dan industri kosmetik (Minkova 1992). Warna pigmen yang dihasilkan mikroalga dapat bercampur dengan bahan makanan dan tidak mengandung racun. Produksi biopigmen dari mikroalga juga memiliki beberapa keunggulan anatara lain tidak tergantung pada iklim dan cuaca, waktu tumbuh cepat sehingga dapat dipanen dalam waktu yang tidak terlalu lama, dapat diproduksi terus-menerus, tidak dapat menyebabkan dampak buruk bagi lingkungan, serta produksinya dapat dikendalikan sesuai dengan kebutuhan dan keinginan, serta aman bagi kesehatan. (Arylza<sup>2</sup> 2005; Borowitzka dan Borowitzka 1988). Senyawa biopigmen pada *P. cruentum* juga mengandung antioksidan yang baik bagi kesehatan.

Perkembangan IPTEK yang semakin pesat menyebabkan kesadaran masyarakat semakin meningkat sehingga tuntutan terhadap pigmen alami semakin besar Namun, pewarna alami saat ini harganya masih mahal dan memiliki sifat kurang stabil pada suhu panas sehingga diperlukan suatu campuran bahan tertentu. Chitosan merupakan salah satu alternatifnya. *Chitosan* mempunyai gugus amin/NH yang reaktif dan gugus hidroksil yang banyak serta kemampuannya membentuk gel sehingga *chitosan* dapat berperan sebagai komponen reaktif, pengkelat, pengikat, pengabsorpsi, penstabil, pembentuk film, penjernih, flokulan, koagulan (Shahidi *et al* 1999).Ketahanan kimia yang dimiliki *chitosan* juga cukup baik (Ronaldo 2008).

Saat ini, penelitian tentang biopigmen masih terbatas pada isolasi dan pengaruh factor pertumbuhan. Perkembangan IPTEK dan kesadaran masyarakat terhadap kesehatan yang semakin besar menyebabkan diperlukannya biopigmen alami yang stabil sehingga dapat bersaing dengan pewarna sintesis.Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang imobilisasi pigmen *P. cruentum* menggunakan *chitosan* serta aplikasinya sehingga diperoleh kurva pertumbuhan dari mikroalga *P. cruentum*, biomassa *P. cruentum* pada umur 21

hari, biopigmen *P. cruentum* pada umur 21 hari, kansungan antioksidan, dan matrik impbil yang stabil sehingga menjadi solusi terhadap pewarna sintesis non *food grade* yang sering digunakan pada produk pangan, aman bagi kesehatan masyarakat, dan diharapkan dapat diproduksi skala besar serta memiliki harga yang lebih murah.

### 1.2 Perumusan Masalah

1. Penggunaan pewarna sintesis pada sebagian besar industri makanan dan minuman yang akan berdampak pada gangguan kesehatan konsumen.
2. Sifat dari pigmen alami yang kurang stabil.
3. Harga biopigmen alami yang mahal .
4. Biopigmen *P. cruentum* belum dimanfaatkan secara optimal

### 1.3 Tujuan

1. Mendapatkan kurva pertumbuhan dari mikroalga *P. cruentum*.
2. Mendapatkan biomassa dan rendemen *P. cruentum* pada umur panen 21 hari.
3. Mendapatkan ekstraksi biopigmen pada umur 21 hari
4. Mendapatkan matriks imobil pigmen *P. cruentum*
5. Mengetahui kestabilan matriks imobil pigmen *P. cruentum* dan kandungan antioksidannya

### 1.4 Luaran yang Diharapkan

Program ini diharapkan dapat menghasilkan suatu pewarna alami yang stabil dari *Porphyridium cruentum* dan chitosan dengan harga yang terjangkau serta dapat diaplikasikan pada industri pangan sehingga didapatkan pangan yang bergizi dan aman untuk dikonsumsi oleh masyarakat.

### 1.5 Kegunaan Program

Program Kreativitas Mahasiswa bidang penelitian ini berguna untuk melatih kekompakan dalam tim, mengembangkan ide kreatif mahasiswa dalam menyelesaikan permasalahan yang terjadi di masyarakat berupa penggunaan pewarna sintesis yang dapat menyebabkan gangguan kesehatan dalam jangka panjang dengan menggunakan pigmen alami yang stabil.

## 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Porphyridium cruentum*

*Porphyridium cruentum* adalah mikroalga merah bersel satu yang termasuk kelas *Rhodophyceae*, hidup bebas atau berkoloni yang terikat dalam mucilago. Senyawa mucilago dieksresikan secara konstan oleh sel membentuk sebuah kapsul yang mengelilingi sel. Mucilago merupakan polisakarida sulfat yang bersifat larut dalam air (Borowitzka & Borowitzka 1988).

Sel *Porphyridium cruentum* berbentuk bulat dengan diameter 4 - 9  $\mu\text{m}$ . Struktur selnya terdiri dari sebuah nukleus (inti), kloroplas, badan golgi, mitokondria, lendir, pati dan vesikel. Setiap sel memiliki kloroplas dengan pirenoid di tengahnya (Lee 1989). *Porphyridium* dapat hidup di berbagai habitat alam seperti air laut, air tawar, maupun pada permukaan tanah yang lembab dan membentuk lapisan kemerah-merahan yang sangat menarik. Habitat asli dari

*Porphyridium cruentum* diduga berasal dari laut karena dapat hidup dengan baik pada media cair maupun media padat air laut (Borowitzka & Borowitzka 1988).

Biomasa kering sel *Porphyridium cruentum* mengandung protein 28-40%, karbohidrat 22-57%, lipid 6-14%, *phycoerythrin* 8%, asam arachidonat 2%, *phycocyanin* 0,2- 0,3% dan klorofil 0,1-0,3% . Sel *Porphyridium cruentum* dapat menghasilkan metabolit-metabolit yang aktif secara biologi seperti antibiotik. Kelompok senyawa kimia utama yang merupakan antibakteri adalah fenol dan senyawa fenolat, alkohol, halogen, logam berat, detergen, aldehid, dan gas kemosterilisator (Borowitzka & Borowitzka 1988).

## 2.2 Chitosan

*Chitosan* merupakan produk dari proses deasetilasi chitin yang merupakan komponen utama eksoskeleton dari kelas krustacea. Chitosan adalah kopolimer linier yang tersusun oleh 2000-3000 monomer D-glukosamin (GlcN) dalam ikatan  $\beta$  (1-4) yang terdiri dari 2-asetil-2-deoksi-D-glukopiranosida dan 2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranosida (Prashanth dan Tharanathan 2007). Chitosan mempunyai gugus amino bebas polikationik, pengkelat, dan pembentuk dispersi dalam larutan asam asetat. Bila chitosan dilarutkan dalam asam maka chitosan akan menjadi polimer kationik dengan struktur linear sehingga dapat digunakan dalam proses flokulasi, pembentuk film atau imobilisasi dalam berbagai reagen biologi termasuk enzim (Rinaudo 2006). Proses kationisasi mengarah kepada pembentukan grup yang fungsional (OH dan NH). Chitosan yang larut dalam asam memiliki keunikan yakni mampu membentuk gel yang stabil dan membentuk muatan dwi kutub, yaitu muatan positif pada gugus NH dan muatan negatif pada gugus karboksilat (Krajewska 2004).

*Chitin-chitosan* merupakan senyawa kimia yang mudah menyesuaikan diri, hidrofilik, memiliki reaktivitas kimia yang tinggi (karena mengandung gugus OH dan gugus NH<sub>2</sub>) untuk ligan yang bervariasi (sebagai pewarna dan penukar ion). Ketahanan kimia yang dimiliki *chitosan* juga cukup baik. *Chitosan* larut dalam asam, tetapi tidak larut dalam basa, serta tidak larut dalam media campuran asam basa (Ronaldo 2008). Melihat *chitosan* mempunyai gugus amin/NH yang reaktif dan gugus hidroksil yang banyak serta kemampuannya membentuk gel maka *chitosan* dapat berperan sebagai komponen reaktif, pengkelat, pengikat, pengabsorpsi, penstabil, pembentuk film, penjernih, flokulan, koagulan (Shahidi *et al* 1999)

## 3.3 Imobilisasi

Imobilisasi merupakan suatu teknik untuk menempatkan enzim atau sel dalam suatu ruang atau matriks sehingga sebagian besar aktifitasnya berkurang dan masih memperlihatkan aktifitas katalitiknya serta dapat digunakan secara berulang-ulang. Teknik amobilisasi dapat dilakukan pada enzim maupun sel mikroba.

Imobilisasi sel memiliki beberapa keunggulan dari teknik imobilisasi enzim. Menurut Destialisme (1992) menyatakan dengan imobilisasi sel dapat mencegah penurunan aktifitas enzim akibat pada proses ekstraksi enzim. Selain itu, untuk sel yang bersistem multienzim, fermentasi biasa yang melibatkan reaksi multienzim dapat digantikan dengan reaksi kesinambungan dengan imobilisasi sel. Teknik imobilisasi terbagi atas beberapa prinsip. Bickerstaff (1997) terdapat

lima prinsip metode imobilisasi sel atau enzim, yaitu adsorpsi, ikatan kovalen, penjeratan, enkapsulasi, dan ikatan silang.

Metode penjeratan (entrapping) telah umum digunakan dalam amobilisasi sel (Klinkenberg *et al* 2001). Terutama bahan pembawa yang terbuat dari bahan berbentuk gel, seperti karagenan dan alginat. Metode pemerangkapan cukup sederhana dan dapat diterapkan secara luas untuk pemerangkapan sel mikroba dan organel dengan berbagai ukuran dan karakteristiknya.

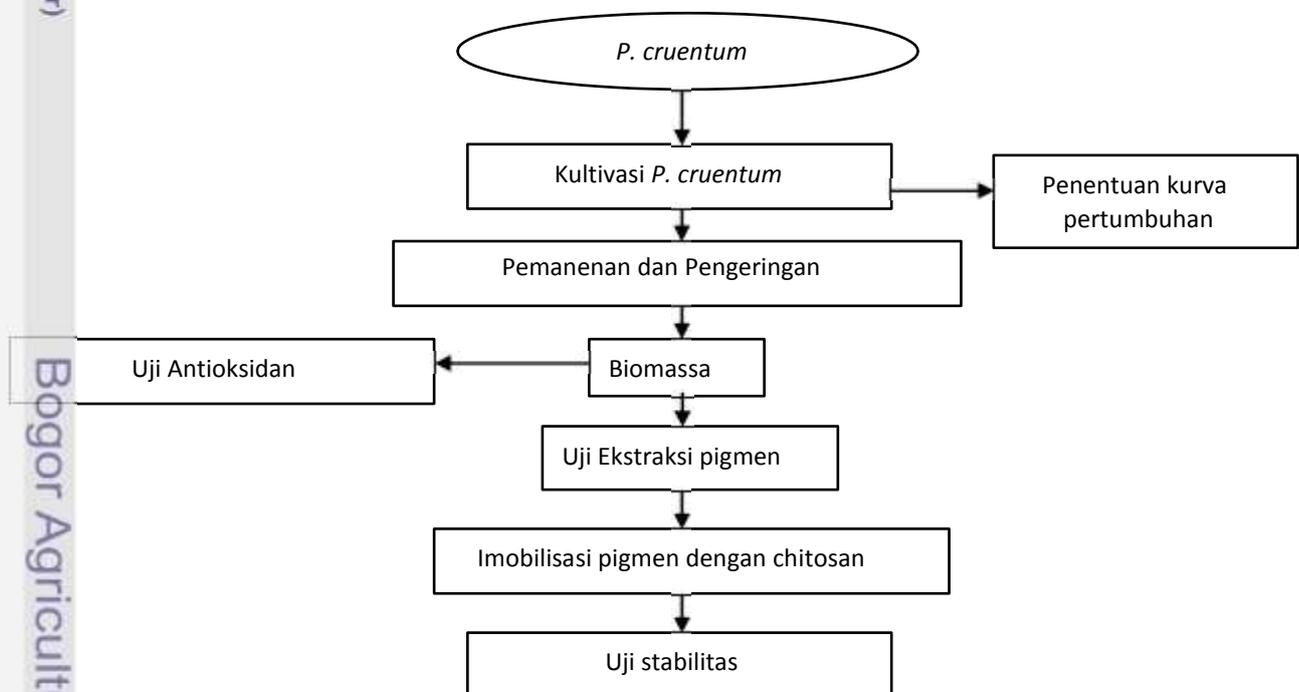
Pemerangkapan menyebabkan kosentrasi lokal sel menjadi tinggi. Sel-sel mikroorganisme dijebak dalam matrik polimer yang bersifat membran semipermeabel sehingga mikroorganisme masih dapat menjalankan aktifitasnya. Sel mikroba diperangkap secara fisik namun tidak diikat secara kimiawi. Sarana penempatan mikroorganisme dapat berbentuk gel suatu bentuk serabut kapiler atau mikrokapsul (Henrikardiyah 1996).

Bahan yang digunakan untuk imobilisasi sel dengan metode penjeratan, ada dua jenis, yaitu polimer alami dan polimer buatan. Polimer alami yang umum digunakan yaitu kolagen, gelatin, agar/agarosa, x-karagenan, gelatin, selulosa, kitosan dan alginat (Jennie 1993).

### 3 METODE PENDEKATAN

#### 3.1 Prosedur Kerja

Penelitian ini meliputi 6 tahapan, yaitu : 1). Kultivasi *P. cruentum* dengan media guillard, 2). Pemanenan dan pengeringan, 3). Uji Ekstraksi Pigmen, 4). Imobilisasi pigmen dengan chitosan, 5). Uji stabilitas, dan 6). Uji Antioksidan. Secara umum digambarkan dengan diagram alir sebagai berikut :



Gambar 1. Diagram alir Imobilisasi biopigmen *P. cruentum* dengan chitosan

## 1. Kultur Mikroalga *Porphyridium cruentum*

Mikroalga *P. cruentum* yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Marinkultur Pusat Penelitian Oseanografi-LIPI Ancol, Jakarta Utara. Media yang digunakan adalah medium yang mengandung unsur-unsur pokok yang dibutuhkan oleh mikroalga terdiri dari sumber karbon, nitrogen dan mineral (Kabinawa 1993). Media yang digunakan adalah media guillard yang dapat dilihat pada Lampiran 1.

Penyegaran stock mikroalga perlu dilakukan sebelum dikultivasi dalam bioreaktor agar mikroalga yang ditumbuhkan berada dalam kondisi segar dan aktif. Penyegaran dilakukan selama kurang lebih empat hari dalam bioreaktor dan medium yang digunakan adalah medium kultivasi. Volume kultur untuk penyegaran adalah 500 ml dan mikroalga yang dimasukkan sebanyak 10 % V/V. Penyegaran stok mikroalga dilakukan dalam keadaan aseptik pada suhu ruang di bawah penyinaran lampu neon ( $\pm 2000$  lux) dengan pembentukan aerasi.

Kultivasi mikroalga dimulai dengan memindahkan 10 % kultur segar. *Porphyridium cruentum* ke dalam bioreaktor. Mikroalga kemudian dikultivasi selama 21 hari dengan pemberian intensitas cahaya 2000 lux. Selama kultivasi dilakukan pengambilan contoh sekali sehari pada pagi hari sebanyak 1 ml. Selanjutnya contoh digunakan untuk menghitung konsentrasi sel mikroalg.

## 2. Pengukuran Kosentrasi Sel Mikroalga

Metode yang digunakan dalam perhitungan sel adalah metode mikroskopis langsung dengan menggunakan hemasitometer (Hadioetomo 1993). Sampel mikroalga dikocok terlebih dahulu dengan menggunakan vortex hingga homogen dan dengan menggunakan mikropipet, sebanyak 0,1 ml suspensi alga diteteskan pada hemasitometer yang telah dibersihkan dengan kertas lensa, kemudian ditutup dengan kaca penutup. Sel mikroalga diamati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 40 x 10 dengan 3x ulangan. Penentuan kurva pertumbuhan dilakukan dengan rumus :

$$\text{Log } D_2 = ((N_1+N_2)/2)*50000$$

## 3. Pemanenan dan Pengeringan

Mikroalga yang telah dikultivasi selama 21 hari kemudian dipanen. Pemanenan dilakukan dengan sentrifuse 10000 rpm selama 10 menit dan kemudian didapatkan biomassa.

## 4. Ekstraksi dan Pengukuran Pigmen

Metode yang digunakan dalam ekstraksi pigmen adalah berdasarkan metode dari Minkova *et al* (1992). Ekstraksi pigmen dilakukan dengan cara sebagai berikut biomassa dari contoh dilarutkan dalam buffer fosfat pH 7 setelah sebelumnya dilakukan pencucian dengan buffer fosfat pH 7. Kemudian divortek sampai biomasanya larut dan disimpan pada refrigerator. Suspensi sel kemudian disentrifuse selama 30 menit 3000 rpm. Supernatan yang dihasilkan kemudian diukur dengan menggunakan spektrofotometer. Secara umum digambarkan dengan diagram alir pada Lampiran

## 5. Imobilisasi sel

Tahap selanjutnya adalah imobilisasi biopigmen *P. cruentum* dengan menggunakan bahan penjerat berupa chitosan. Alat dan bahan dalam kondisi steril. Biopigmen diimobilisasi menurut jenis matrik imobil yang dicobakan.

**Thank you for evaluating Wondershare PDF Converter.**

**You can only convert 5 pages with the trial version.**

**To get all the pages converted, you need to purchase the software from:**

[http://store.wondershare.com/index.php?method=index&pid=524&license\\_id=11&sub\\_lid=3121&payment=paypal](http://store.wondershare.com/index.php?method=index&pid=524&license_id=11&sub_lid=3121&payment=paypal)