

PENGARUH PENGGUNAAN SENYAWA FIKSATOR TERHADAP STABILITAS EKSTRAK KASAR PIGMEN β -KAROTEN MIKROALGA *Dunaliella salina* PADA KONDISI SUHU BERBEDA

*Fixings Agent Effect to β -carotene Stability of Crude Extract from *Dunaliella salina* Microalga at Different Temperature Condition*

Ardini Ria Oktora*, Widodo Farid Ma'ruf, Tri Winarni Agustini

Program Studi Teknologi Hasil Perikanan, Jurusan Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro, Jalan Prof. Soedarto, SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Faks. +6224 7474698

*Korespondensi: ardiniriaoktora@gmail.com

Diterima: 24 September 2016/ Review: 20 November 2016/ Disetujui: 06 Desember 2016

Cara sitasi: Oktora AR, Ma'ruf WF, Agustini TW. 2016. Pengaruh penggunaan senyawa fiksator terhadap stabilitas ekstrak kasar pigmen β -karoten mikroalga *Dunaliella salina* pada kondisi suhu berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(3): 206-213.

Abstrak

Dunaliella salina mempunyai kandungan pigmen karotenoid yang dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami. Kendala utama pewarna alami adalah kestabilannya yang kurang baik. β -karoten mempunyai sifat labil terhadap suhu. Penelitian ini bertujuan menentukan kandungan dan stabilitas pigmen β -karoten pada *D. salina* dengan penambahan senyawa fiksator $MgCO_3$ dan $NaHCO_3$ dan perlakuan suhu sebagai salah satu faktor yang mempengaruhi terdegradasinya pigmen β -karoten pada kondisi penyimpanan. Metode penelitian yang digunakan yaitu pigmen β -karoten yang diperoleh dengan cara maserasi ditambahkan fiksator ($NaHCO_3$ 0,5% dan tanpa penambahan fiksator), dipanaskan pada suhu (50° , 70° dan $90^\circ C$), diukur kandungan β -karoten dan disimpan (pengamatan jam ke- 0, 24, 48, 72, 96, 120 dan 144). Data dianalisa menggunakan analisa sidik ragam (ANOVA) dan uji lanjut menggunakan Beda Nyata Jujur (BNJ). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan beta karoten pada suhu $50^\circ C$ mengalami penurunan kandungan pigmen dan nilai pH yang paling lambat yaitu pada hari ke-6, sedangkan suhu $90^\circ C$ mengalami penurunan yang paling cepat yaitu pada hari ke-4. Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa $NaHCO_3$ dalam ekstrak kasar pigmen β -karoten mikroalga *D. salina* lebih menstabilkan pigmen β -karoten dibandingkan dengan $MgCO_3$, dengan kestabilan terbaik ada pada sampel yang menggunakan fiksator $NaHCO_3$ 0,5% pada suhu $50^\circ C$ selama penyimpanan 144 jam.

Kata kunci: β -karoten, *Dunaliella salina*, fiksator, $NaHCO_3$, stabilitas pigmen

Abstract

Dunaliella salina is a microalga rich pigment carotenoids that can be used as natural dyes. The problem faced for temporary β -carotene stability which is unstable and easily degraded is unstable and easily degraded. The purpose of this research was to determine content and stability of β -carotene pigment in *D. salina* with fixings addition of $MgCO_3$ and $NaHCO_3$ with temperature treatment as factor that influence β -carotene pigment degradation during storage condition. The research method used β -carotene pigment which was obtained by maceration and adding fixing agent ($NaHCO_3$ 0,5% and without fixings addition), and was heated at temperature of (50° , 70° and $90^\circ C$), be measured the content of β -carotene pigment during storage (observation hour 0, 24, 48, 72, 96, 120 and 144). Data analyzed by ANOVA and Honestly Significant Different (HSD). The result showed that content of β -carotene pigment at $50^\circ C$ temperature showed that stability and pH value performed slowest degradation after 144 hours. While stability and pH value at $90^\circ C$ temperature performed fastest degradation after 96 hours. Based on this study the addition of $NaHCO_3$ gave more effective in retaining β -carotene degradation compared to that of $MgCO_3$ which showed by high stability in sample $NaHCO_3$ 0,5%, temperature $50^\circ C$ in 144 hours storage length.

Keywords: β -carotene, *Dunaliella salina*, fixing agent, $NaHCO_3$, pigment stability

PENDAHULUAN

Mikroalga adalah mikroorganisme bersel satu yang umumnya memiliki pertumbuhan secara autotrof, menggunakan CO₂ sebagai sumber karbon, dan cahaya untuk fotosintesis. Mikroalga dapat menambah nilai gizi pada makanan dan mempunyai pengaruh yang positif terhadap kesehatan manusia (Spolaore *et al.* 2006).

Mikroalga memiliki komponen aktif yang dimanfaatkan dalam bidang industri pangan, kosmetik, *pharmaceutical* dan *neutraceutical*. Komponen aktif mikroalga antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida. Selain itu, mikroalga juga mengandung pigmen (klorofil, *phycobillinsome*, karoten) tokoperol, EPA dan DHA (El-Baky *et al.* 2008). Komponen aktif mikroalga mempunyai aktivitas antitumor dan antimikroba (Taskin *et al.* 2010); dan aktivitas antioksidan (Marxen *et al.* 2007).

Dunaliella merupakan salah satu mikroalga yang cukup banyak diteliti terutama sebagai sumber β-karoten dan gliserol. Pemanfaatan *Dunaliella* cukup beragam mulai dari sebagai makanan kesehatan seperti yang telah dipasarkan di negara-negara maju. *Dunaliella salina* juga dapat dimanfaatkan sebagai jasad pakan yang cukup baik. Kandungan pigmen karotenoid dalam *D. salina* diduga dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami (Isnansetyo dan Kurniastuty 1995).

Karotenoid merupakan kelompok pigmen dan antioksidan alami yang dapat meredam radikal bebas dan menyebabkan warna kuning orange atau merah pada tanaman. Pigmen ini ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi, alga, jamur, dan bakteri, pada jaringan non fotosintesis dan fotosintesis bersama dengan klorofil (Gross 1991). Pigmen karoten yang berasal dari bahan-bahan alami seperti tumbuh-tumbuhan biasanya terkendala oleh stabilitasnya, dimana pewarna alami ini memiliki sifat yang tidak stabil dibandingkan dengan pewarna sintetis. Kelemahan dari penggunaan pewarna alami adalah warna yang kurang stabil yang bisa disebabkan oleh pengaruh pemanasan (suhu), sehingga intensitas warnanya sering berkurang selama proses pembuatan makanan.

Penurunan kandungan pigmen beta karoten disebabkan karena pengaruh suhu pemanasan sehingga pigmen mengalami kerusakan. Pigmen beta karoten tidak stabil pada suhu tinggi (diatas 60°C). Suhu tinggi akan merusak gugus kromofor yang membuat warna pigmen menjadi pucat (Rodriguez dan Miko 2004)

Salahsatu cara untuk melindungi kandungan pigmen dari pengaruh suhu yakni dengan melakukan fiksasi. Fiksasi merupakan suatu upaya penstabilan dengan cara penambahan suatu zat yang dapat mengikat logam yang dihasilkan oleh perubahan pigmen akibat pengaruh suhu, cahaya. Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari pengaruh dari fiksator MgCO₃ dan NaHCO₃ terhadap stabilitas warna pigmen β-karoten dan mempelajari pengaruh perlakuan penggunaan fiksator, dalam kondisi suhu berbeda dengan lama penyimpanan terhadap stabilitas warna pigmen β-karoten.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu mikroalga *D. salina* dari BPPAP Jepara, n-Heksan, MgCO₃, NaHCO₃, akuades, aluminium foil dan kertas saring diperoleh dari toko kimia indrasari Semarang.

Alat yang digunakan adalah sentrifuse, tabung sentrifuse (Pyrex iwaki) dan sentrifuge (*Table Top Centrifuge Plc 03 Series*), timbangan analitik (Camry), Gelas ukur 10 mL (Pyrex iwaki), gelas ukur 100 mL (Pyrex iwaki), *beaker glass* 250 mL (Pyrex iwaki), spatula (*Pyrex iwaki*), pipet ukur 1 mL (Pyrex iwaki), pipet tetes, corong, labu ukur 10 mL (Pyrex iwaki), botol vial, spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu) dan pH meter (Schott).

Metode Penelitian

Penelitian terdiri dari dua tahap, yaitu penelitian pendahuluan dan penelitian utama. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk mengetahui jenis dan konsentrasi fiksator terbaik. Penelitian pendahuluan ini untuk mengetahui kestabilan pigmen β-karoten dengan penambahan senyawa fiksator MgCO₃ dan NaHCO₃ dengan konsentrasi masing-masing 0,5 dan 1%, pengukuran nilai

absorbansi β -karoten dilakukan setiap 24 jam sekali hingga penurunan 50%.

Penelitian utama dilakukan penambahan jenis dan konsentrasi terbaik dari hasil penelitian pendahuluan yang diberi perlakuan suhu (50, 70 dan 90°C) dan penyimpanan pada suhu ruang. Prosedur penelitian utama ini adalah dengan memisahkan biomassa dari air media kultivan dengan menggunakan sentrifuge. Biomassa diperoleh dengan cara melakukan sentrifuse pada air mikroalga dengan volume 250 mL, selanjutnya dihilangkan supernatan dan dikumpulkan endapannya. Tahapan dari proses sentrifuse yaitu dengan memasukkan 12 mL air mikroalga ke dalam tabung sentrifuse, selanjutnya tabung sentrifuse tersebut dimasukkan ke dalam alat sentrifuse dan diputar dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit pada suhu ruang (32°C). Bagian larutan berupa air bening dipisahkan sehingga didapatkan endapan (biomassa) sebagai sampel untuk diekstraksi. Setelah didapatkan biomassa dilakukan maserasi dengan pelarut n-heksan sebanyak 10 mL dan disimpan selama 24 jam dalam ruang gelap untuk menghindari cahaya karena dapat merusak pigmen β -karoten. Setelah 24 jam ekstrak disaring untuk memisahkan endapan yang ada.

Sebelum dilakukan pengukuran, terlebih dahulu dilakukan penentuan panjang gelombang serapan optimum. Untuk mengetahui kandungan pigmen karoten pada gelombang tertentu dilakukan pengukuran pada panjang gelombang 400-600 nm. Puncak pada panjang gelombang dengan nilai absorbansi tertinggi tersebut merupakan serapan optimum yang digunakan untuk mengukur kandungan pigmen karoten.

Tahap selanjutnya ekstrak yang telah diperoleh ditambahkan senyawa fiksator. Senyawa fiksator yang digunakan. Penambahan senyawa fiksator dilakukan dengan melarutkan senyawa fiksator NaHCO_3 0,5% pada akuades, kemudian diteteskan sebanyak 0,2 mL pada ekstrak kasar pigmen β -karoten yang telah diperoleh. Selanjutnya ekstrak kasar pigmen β -karoten yang telah diberi senyawa fiksator dilakukan pemanasan dengan *waterbath* pada suhu 50,

70 dan 90°C selama 30 menit. Masing-masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Selanjutnya dilakukan pengujian yang dilakukan meliputi pengukuran kandungan pigmen dengan spektrofotometer UV-Vis dan pengukuran nilai pH. Penentuan hari dalam proses penyimpanan sampel yaitu hingga penurunan 50% nilai absorbansi pigmen β -karoten terlama pada kondisi ruang gelap suhu ruang.

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental laboratories yaitu observasi di bawah kondisi buatan dimana kondisi tersebut dibuat dan diatur oleh peneliti. Semua perlakuan dilakukan dengan 3 kali ulangan dan pola percobaan adalah rancangan percobaan faktorial $2 \times 3 \times 7$ dengan faktor penambahan fiksator (NaHCO_3 0,5% dan tanpa penambahan fiksator), suhu (50, 70 dan 90°C) dan lama penyimpanan (pengamatan jam ke- 0, ke-24, ke-48, ke-72, ke-96, ke-120 dan ke-144). Variabel yang diamati adalah stabilitas pigmen beta karoten pengaruh perlakuan fiksator, suhu dan penyimpanan.

Prosedur Analisis

Analisis kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis

Kandungan pigmen dalam ekstrak n-Heksan dapat diketahui dengan menggunakan rumus, namun absorbansi dari ekstrak tersebut harus dicari terlebih dahulu dengan spektrofotometer UV-Vis. Berikut langkah-langkah dalam mencari absorbansi dengan spektrofotometer UV-Vis:

1. Larutan hasil ekstrak tersebut dimasukkan dalam cuvet;
2. Masing-masing sampel diukur absorbansinya pada panjang gelombang 450 nm untuk mengetahui karakteristik serapannya;
3. Absorbansinya dicatat dan dimasukkan ke dalam rumus untuk mengetahui kandungan pigmen.

Kemudian setelah diperoleh puncak spektrum serapannya, kandungan pigmen karoten dihitung kuantitasnya menggunakan rumus kandungan senyawa karotenoid. Perhitungan kandungan karotenoid ini mengacu pada rumus dari Fikselova *et al.* (2008) adalah sebagai berikut:

$$\beta\text{-karoten} = \frac{A \times d \times V}{E_{1\%}^{1\text{cm}} \times W}$$

Dimana:

A = Absorbansi

d = Pengenceran

$E_{1\%}^{1\text{cm}}$ = Koefisien absorptansi

W = Berat sampel (g)

V = Volume sampel (ml)

Pengukuran Nilai pH

Langkah awal pengukuran pH adalah mula-mula sensor dicelupkan pada aquades dengan nilai pH 7. Selanjutnya sensor dimasukkan dalam larutan sampel yang akan dilakukan pengukuran pH. Setelah nilai pH stabil yang dilihat dari nilai terukur pada layar pH meter selanjutnya dicatat hasilnya.

Penelitian Tahap I

Penggunaan fiksator dapat mempertahankan kestabilan pigmen (Tabel 1), hal ini karena fiksator dapat menghambat pembentukan senyawa yang

dapat menurunkan kandungan pigmen. NaHCO_3 merupakan fiksator yang lebih efektif dalam mempertahankan kandungan pigmen karoten dengan konsentrasi 0,5%. Penggunaan jenis fiksator dan konsentrasi yang tepat, dapat memberikan kestabilan pigmen yang lebih baik. LaBorde dan von Elbe (1990) menyatakan bahwa pembentukan senyawa gabungan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain konsentrasi fiksator, jenis pigmen, dan pH.

Penelitian Tahap II

Kandungan dan Stabilitas Pigmen Beta Karoten terhadap Pengaruh Suhu

Nilai kandungan pigmen beta karoten yang diperoleh menunjukkan adanya tren penurunan untuk kedua perlakuan baik penggunaan NaHCO_3 0,5% maupun tanpa fiksator. Nilai kandungan beta karoten pada penggunaan NaHCO_3 0,5% mengalami selang penurunan yang lebih kecil dibandingkan tanpa fiksator. Pada perlakuan suhu untuk suhu 50°C mengalami selang penurunan

Tabel 1 Hasil nilai kandungan beta karoten dari mikroalga *Dunaliella salina* ($\mu\text{g/ml}$) penelitian pendahuluan

Ke-beradaan	Lama penyimpanan (Jam ke-)	Lama penyimpanan (jam)						
		0	24	48	72	96	120	144
MgCO_3	0,5%	0,0309 $\pm 0,0010$ (100%)	0,0247 \pm 0,0008 (80%)	0,0221 $\pm 0,0008$ (72%)	0,0188 $\pm 0,0008$ (61%)	0,0152 $\pm 0,0006$ (49%)	0,0140 $\pm 0,0006$ (46%)	0,0130 $\pm 0,0008$ (42%)
		0,0331 $\pm 0,0010$ (100%)	0,0291 $\pm 0,0011$ (88%)	0,0259 $\pm 0,0008$ (79%)	0,0214 $\pm 0,0011$ (65%)	0,0175 $\pm 0,0008$ (53%)	0,0154 $\pm 0,0009$ (47%)	0,0138 $\pm 0,0006$ (42%)
	0,5%	0,0339 $\pm 0,0017$ (100%)	0,0316 $\pm 0,0017$ (94%)	0,0250 \pm 0,0021 (74%)	0,0238 \pm 0,0015 (71%)	0,0213 \pm 0,0012 (63%)	0,0172 \pm 0,0017 (51%)	0,0157 \pm 0,0011 (46%)
		0,0336 \pm 0,0001 (100%)	0,0306 \pm 0,0003 (92%)	0,0271 \pm 0,0001 (81%)	0,0225 \pm 0,0005 (67%)	0,0184 \pm 0,0004 (55%)	0,0162 \pm 0,0005 (48%)	0,0146 \pm 0,0002 (43%)
Tanpa Fiksator	0,5%	0,0282 \pm 0,0003 (100%)	0,0225 \pm 0,0003 (80%)	0,0194 \pm 0,0006 (70%)	0,0167 \pm 0,0005 (59%)	0,0137 \pm 0,0001 (48%)	0,0120 $\pm 0,0006$ (43%)	0,0109 \pm 0,0003 (39%)

Keterangan: Data merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan \pm standar deviasi. Angka dalam kurung merupakan persen (%) penurunan kadar beta karoten.

Tabel 2 Kandungan beta karoten ($\mu\text{g/mL}$) pada ekstrak *Dunaliella salina* dengan perlakuan keberadaan fiksator, perbedaan suhu dan lama penyimpanan

Ke-beradaan	Lama penyimpanan (Jam ke-)	Lama penyimpanan (jam)		
		0	24	48
NaHCO ₃ 0,5%	0	0,0329 ± 0,0006 ^a (100%)	0,0320 ± 0,0006 ^h (100%)	0,0316 ± 0,0007 ^o (100%)
	24	0,0309 ± 0,0004 ^b (94%)	0,0293 ± 0,0002 ⁱ (92%)	0,0253 ± 0,0003 ^p (81%)
	48	0,0293 ± 0,0004 ^c (89%)	0,0271 ± 0,0002 ^j (85%)	0,0219 ± 0,0002 ^q (70%)
	72	0,0245 ± 0,0003 ^d (75%)	0,0228 ± 0,0004 ^k (71%)	0,0193 ± 0,0004 ^r (60%)
	96	0,0214 ± 0,0003 ^e (68%)	0,0208 ± 0,0001 ^l (65%)	0,0154 ± 0,0002 ^s (48%)
	120	0,0198 ± 0,0003 ^f (60%)	0,0184 ± 0,0006 ^m (57%)	0,0142 ± 0,0003 ^t (45%)
	144	0,0156 ± 0,0003 ^g (49%)	0,0146 ± 0,0004 ⁿ (46%)	0,0134 ± 0,0003 ^u (42%)
Tanpa Fiksator	0	0,0314 ± 0,0003 ^v (100%)	0,0307 ± 0,0002 ^{cc} (100%)	0,0302 ± 0,0002 ^{jj} (100%)
	24	0,0252 ± 0,0004 ^w (81%)	0,0240 ± 0,0002 ^{dd} (80%)	0,0242 ± 0,0003 ^{kk} (78%)
	48	0,0206 ± 0,0004 ^x (66%)	0,0197 ± 0,0002 ^{ee} (64%)	0,0176 ± 0,0002 ^{ll} (57%)
	72	0,0182 ± 0,0003 ^y (58%)	0,0171 ± 0,0003 ^{ff} (56%)	0,0139 ± 0,0003 ^{mm} (46%)
	96	0,0148 ± 0,0003 ^z (49%)	0,0139 ± 0,0002 ^{gg} (47%)	0,0125 ± 0,0002 ⁿⁿ (44%)
	120	0,0140 ± 0,0003 ^{aa} (46%)	0,0131 ± 0,0003 ^{hh} (43%)	0,0120 ± 0,0002 ^{oo} (40%)
	144	0,0132 ± 0,0001 ^{bb} (42%)	0,0123 ± 0,0002 ⁱⁱ (40%)	0,0114 ± 0,0002 ^{pp} (38%)

Keterangan: Data merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan ± standar deviasi. Angka dalam kurung merupakan persen (%) penurunan kadar beta karoten. Data yang diikuti superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

paling kecil dan lambat, sedangkan untuk suhu 90°C mengalami selang penurunan yang paling besar dan cepat (Tabel 2).

Tabel 2 menunjukkan bahwa penggunaan fiksator dengan tanpa fiksator, suhu dan lama penyimpanan berbeda nyata ($p < 0,05$) terhadap kandungan β -karoten. Perlakuan yang diberikan dapat mempengaruhi kestabilan pigmen yang dapat dilihat dari laju penurunan beta karoten. Pada suhu 50°C laju penurunan terjadi paling lambat dibandingkan suhu 70°

dan 90°C. Penggunaan fiksator, lebih lambat laju penurunannya daripada tanpa fiksator. Adanya pemberian perlakuan suhu dan penggunaan senyawa fiksator mempengaruhi penurunan laju kandungan pigmen beta karoten terhadap penyimpanan.

Perlakuan suhu rendah dan penggunaan fiksator cenderung membuat pigmen beta karoten lebih stabil. Penurunan yang terjadi dikarenakan adanya perlakuan suhu pada pigmen beta karoten. Suhu yang tinggi dapat

menyebabkan reaksi oksidasi. Selain suhu pengaruh dari oksigen akibat penyimpanan dapat mempengaruhi struktur dari senyawa β -karoten, hal ini akan mengakibatkan adanya oksidasi dan isomerisasi pada pigmen beta karoten. Faktor tersebut yang mempengaruhi terjadinya oksidasi dan isomerisasi yang menyebabkan rusaknya gugus kromofor pada struktur β -karoten sehingga terjadi pemucatan atau pemudaran warna dari senyawa β -karoten dengan cepat. Menurut Fikselova *et al.* (2008) menyebutkan bahwa adanya oksigen akan mempercepat terjadinya proses oksidasi pada struktur β -karoten. Rusaknya gugus kromofor pada senyawa β -karoten akan membuat pemucatan warna pada pigmen semakin cepat. Rodriguez dan Miko (2004) menyebutkan bahwa pemanasan yang tinggi (diatas 60°C) akan merusak struktur senyawa β -karoten sehingga akan mengalami degradasi.

Tinggi rendahnya suatu proses pemanasan, lamanya suatu pemanasan juga dapat mempengaruhi penurunan kandungan pigmen. Lamanya waktu pemanasan dapat menginaktivasi enzim yang ada pada pigmen β -karoten. Hal ini dapat menginduksi reaksi

oksidasi non enzimatis. Reaksi ini dapat mengakibatkan pemudaran warna dan penyimpangan pada rasa pigmen β -karoten. Menurut Eskin (1979) menyebutkan pula bahwa oksidasi dapat dikelompokkan menjadi 2 yaitu oksidasi enzimatis dan oksidasi non enzimatis. Oksidasi enzimatis dikatalis oleh enzim lipoksigenase. Hasil proses oksidasi ini berupa hidroksi beta karoten, semi karoten, beta karotenon, aldehid, dan hidroksi beta neokaroten yang menyebabkan penyimpangan citarasa. Yudawati (2004) menyatakan bahwa oksidasi enzimatis dikatalis oleh enzim lipoksigenase, enzim ini dapat mengkatalis proses oksidasi secara langsung terhadap asam lemak yang mempunyai gugus cis-cis 1,4 pentadiena dan secara tak langsung menyebabkan pemucatan warna karoten.

Adanya penyimpanan pada suhu ruang menyebabkan terjadinya penurunan kandungan beta karoten. Penurunan tersebut disebabkan karena pengaruh dari adanya oksigen/udara, suhu ruangan. Faktor ini akan mengakibatkan terjadinya isomerisasi dan oksidasi enzimatis maupun non enzimatis, sehingga menyebabkan ikatan konjugasi rusak dan mengakibatkan warna kuning menjadi

Tabel 3 Nilai Rata-rata pH ekstrak beta karoten mikroalga *Dunaliella salina* dengan perlakuan keberadaan fiksator, perbedaan suhu dan lama penyimpanan

Keberadaan	Lama penyimpanan (Jam ke-)	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)		
		50	70	90
NaHCO ₃ 0,5%	0	7,38 \pm 0,0153 ^a	7,34 \pm 0,0265 ^h	7,32 \pm 0,0300 ^o
	24	7,14 \pm 0,0361 ^b	7,13 \pm 0,0436 ⁱ	6,96 \pm 0,0265 ^p
	48	6,93 \pm 0,0351 ^c	6,89 \pm 0,0289 ^j	6,73 \pm 0,0493 ^q
	72	6,69 \pm 0,0300 ^d	6,63 \pm 0,0300 ^k	6,38 \pm 0,0346 ^r
	96	6,48 \pm 0,0351 ^e	6,32 \pm 0,0265 ^l	6,04 \pm 0,0346 ^s
	120	6,25 \pm 0,0200 ^f	6,11 \pm 0,0115 ^m	5,76 \pm 0,0153 ^t
	144	6,02 \pm 0,0153 ^g	5,86 \pm 0,0153 ⁿ	5,44 \pm 0,0153 ^u
Tanpa Fik- sator	0	7,32 \pm 0,0153 ^v	7,31 \pm 0,0306 ^{cc}	7,13 \pm 0,0252 ^{jj}
	24	7,00 \pm 0,0252 ^w	6,89 \pm 0,0200 ^{dd}	6,86 \pm 0,0306 ^{kk}
	48	6,66 \pm 0,0306 ^x	6,50 \pm 0,0252 ^{ee}	6,45 \pm 0,0300 ^{ll}
	72	6,34 \pm 0,0351 ^y	6,07 \pm 0,0252 ^{ff}	6,03 \pm 0,0200 ^{mm}
	96	5,97 \pm 0,0208 ^z	5,65 \pm 0,0361 ^{gg}	5,54 \pm 0,0058 ⁿⁿ
	120	5,63 \pm 0,0173 ^{aa}	5,25 \pm 0,0404 ^{hh}	5,15 \pm 0,0100 ^{oo}
	144	5,26 \pm 0,0153 ^{*bb}	4,85 \pm 0,0252 ⁱⁱ	4,74 \pm 0,0000 ^{pp}

Keterangan: Data merupakan hasil rata-rata dari tiga kali ulangan \pm standar deviasi. Data yang diikuti superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)

pudar. Khoo *et al.* (2011) menyatakan bahwa penurunan dari senyawa β -karoten disebabkan karena degradasi dari all-trans β -karoten karena kondisi suhu ruangan, sehingga mudah terurai dalam suhu ruang. Menurut Rodriguez dan Kimura (1999), perubahan karotenoid selama proses pengolahan dan penyimpanan diakibatkan oleh isomerisasi dan oksidasi, sebagai konsekuensinya warna menjadi lebih pucat.

Kandungan dan Stabilitas Pigmen Beta Karoten terhadap Pengaruh Suhu

Tabel 3 dapat diketahui bahwa penggunaan fiksator, lama waktu penyimpanan dan suhu memberikan pengaruh yang nyata ($p < 0,05$) terhadap nilai pH ekstrak kasar pigmen beta karoten. Hal tersebut memberikan dugaan bahwa penyimpanan ekstrak kasar pigmen beta karoten dari suhu 50°C, 70°C dan 90°C selama 144 jam memberikan perubahan yang nyata.

Pengamatan pH menunjukkan adanya penurunan nilai pH ke arah asam pada perlakuan penggunaan fiksator maupun tanpa fiksator, suhu dan penyimpanan (Tabel 3). Akibat perlakuan suhu, pigmen beta karoten akan mengalami isomerisasi dan oksidasi yang menyebabkan adanya gugus kromofor rusak, sehingga membuat larutan menjadi cepat asam. Goodwin (1978) menyatakan bahwa perubahan akibat kondisi asam melibatkan pengurangan kromofor. Secara visual dapat dilihat dengan terjadinya pemucatan warna yang dapat diukur dengan penurunan absorbansi. Hendry dan Houghton (1996) menyebutkan bahwa pada penyimpanan suhu ruang dan suhu refrigerator, ternyata tidak memberikan perbedaan pengaruh terhadap pH. Meskipun struktur penyusun pigmen ini tidak stabil terhadap suhu, tetapi tidak cukup untuk menyebabkan terjadinya perubahan pH secara signifikan selama penyimpanan.

KESIMPULAN

Senyawa fiksator terbaik yang dapat mempertahankan kestabilan warna adalah NaHCO_3 yang digunakan pada suhu 50°C selama 144 jam.

DAFTAR PUSTAKA

- El-Baky HHA, El Baz FK, El Baroty. 2008. Evaluation of marine alga *Ulva lactuca* L. as a source of natural preservative ingredient. *American-Eurasian Journal Agricultural and Environment Science* 3 (3): 434-444.
- Eskin NAM. 1979. Plant Pigments, flavor and texture. The Chemistry and Biochemistry of Selected Compound. Academic Press, New York.
- Fiskelova M, Silhar S, Marecek J, Francakova H. 2008. Extraction of Carrot (*Daucus carota* L.) Carotenes under Different Conditions. *Journal Food Sciene* 26(4): 268-274.
- Goodwin TW. 1978. Plant Pigments. Academic Press, London, 345 hlm.
- Gross J. 1991. Pigment in Vegetable: Chlorophylls and Carotenoids. Von Nonstrad Reinhold, New York, 351 hlm.
- Hendry GAF, Houghton JD. 1996. Natural Food Colorant 2nd ed. Blackie Academic and Professional, London, 155p.
- Isnansetyo A, Kurniastuty. 1995. Teknik Kultur Phytoplankton dan Zooplankton. Pakan Alami untuk Pembenihan Organisme Laut. Kanisius: Yogyakarta.
- Jenie, Betty SL, Mitrajanty KD, Srikandi, Fardiaz. 1997. Produksi konsentrat dan bubuk pigmen angkak dari *Monascus purpureus* serta stabilitasnya selama penyimpanan. *Bulletin Teknologi dan Pangan* 7(2): 39-46.
- Khoo HE, Nagendra KP, Kin-Weng K, Yueming J, Amin I. 2011. Carotenoids and Their Isomers: Color Pigments in Fruits and Vegetables. [Molecules]. Universitas Putra, Malaysia.
- LaBorde, L. F. and von Elbe J. H. 1990. Zinc complex formation in heated vegetable purees. *Journal Agriculture Food Chemistry* 42:1100-1103.
- Marxen K, Vanselow KH, Lippemeier S, Hintze R, Ruser A, Hansen UP. 2007. Determination of DPPH radical oxidation caused by methanolic extracts of some microalgal species by linear regression analysis of spectrophotometric measurements. *Sensors* 7(10): 2080-2095.
- Rodriguez A.B.D., and Kimura A.1999.

- Harvest Plus Handbook of Carotenoid Analysis. Harvest Plus. Brazil.
- Rodriguez, D. B. and Mieko, K. 2004. Harvest Plus Handbook for Carotenoid Analysis. Hand Book Technical Monograph Series 2. Washington.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Comercial applications of microalgae. *Jounal Bioscience and Bioengineering* 101 (2): 87–96.
- Taskin E, Eltem R, Soyak E. 2010. Enhancement of solid state fermentation for production of penicillin on sugar beet pulp. *BioResources* 5(1): 268-275.
- Yudawati, Ari. 2004. Ekstraksi Karoteid Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.): Pengaruh Ukuran Partikel Tepung Ubi Jalar terhadap Efisiensi Ekstraksi Karotenoid. [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.