

Perbandingan Kinerja Ekstraksi Fikobiliprotein dari *Spirulina platensis* Melalui Pengadukan dan *Freezing-Thawing*

Performance Comparison of Phycobiliprotein Extraction from Spirulina platensis through Stirring and Freezing-Thawing

Endah Sulistiawati*, Martomo Setyawan, Zainal Abidin, Muhammad Darmawan,
Harkris Alfian Makasar, dan Tegar Wahyu Pamungkas

Program Studi Teknik Kimia, Universitas Ahmad Dahlan, Kampus UAD IV, Jl. Jend. Ahmad
Yani Tamanan Banguntapan Bantul Yogyakarta, 55191, Indonesia

*Korespondensi penulis : endahsulistiawati@che.uad.ac.id

Diterima: 31 Januari 2023; Direvisi: 29 Maret 2023; Disetujui: 29 Juni 2023

ABSTRAK

Fikobiliprotein yang terdiri dari fikosianin, allofikosianin, dan fikoeritrin, merupakan komponen bioaktif yang terdapat pada *Spirulina platensis* (SP). Fikobiliprotein berfungsi sebagai antioksidan dan antikanker. Metode ekstraksi secara pengadukan dan *freezing-thawing* dipilih karena sederhana, dan paling mudah untuk diterapkan pada skala industri. Penelitian ini membandingkan kinerja secara pengadukan dan *freezing thawing* pada ekstraksi fikobiliprotein (PBP) dari SP dengan pelarut air suling. Variabel yang diteliti adalah waktu pengadukan (1-30 menit), perbandingan pelarut terhadap biomassa (10-200 mL/g), waktu pembekuan (1-16 hari), serta kombinasi antara waktu pengadukan dan pembekuan. SP segar dan kering diperoleh dari CV. Paring Spirulina, Maguwoharjo, Sleman, Yogyakarta. SP segar (5 g) ditambah air suling (10-50 mL), diaduk dengan pengaduk magnetik (300 rpm), ekstraksi, dan penyaringan vakum. Filtrat yang dihasilkan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 562, 615, dan 652 nm. SP kering (0,5 hingga 5,0 g) ditambah air suling, lalu diaduk seperti prosedur pada SP basah. Metode *freezing-thawing* dengan pengadukan dimulai dengan pembekuan SP, dilanjutkan dengan *thawing*, pengadukan, dan penyaringan vakum. Waktu pengadukan 1-5 menit (tanpa pembekuan) memberikan hasil PBP 10,39±0,44 mg/g SP kering. Waktu pembekuan 16 hari (dengan atau tanpa pengadukan) memberikan hasil PBP yang relatif tinggi, yaitu 68,15±2,89 mg/g SP kering. Perbandingan pelarut terhadap biomassa (S/B) optimum pada 100 mL/g SP kering. Aktivitas antioksidan PBP yang ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ adalah 47,19±0,04 mg/L (dari SP segar), dan 42,63±0,08 mg/L (dari SP kering) pada kondisi ekstraksi yang optimum.

Kata Kunci : fikobiliprotein, fikosianin, *freezing-thawing*, pengadukan, *Spirulina platensis*

ABSTRACT

Phycobiliprotein consisting of phycocyanin, allophycocyanin, and phycoerythrin, is a bioactive component found in Spirulina platensis (SP), which functions as an antioxidant and anticancer. Stirring and freezing-thawing were chosen as the extraction methods due to simple and easy to apply on an industrial scale. This study compared the stirring and freezing-thawing performance in extracting phycobiliprotein (PBP) from SP with distilled water as solvent. The variables studied were stirring time (1-30 minutes), solvent-to-biomass ratio (10-200 mL/g), freezing time (1-16 days), and the combination of stirring and freezing time. Fresh and dry SP obtained from CV. Paring Spirulina, Maguwoharjo, Sleman, Yogyakarta. Fresh SP (5 g) was added with distilled water (10-50 mL), stirred with a magnetic stirrer (300 rpm), extraction, and vacuum filtering. The absorbance of the filtrate was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 562, 615, and 652 nm. Dry SP (0.5 to 5.0 g) was added with distilled water, then stirred like the procedure for wet SP. The freezing-thawing and stirring method began with SP freezing, followed by thawing, stirring, and vacuum filtering. Stirring for 1-5 minutes (without freezing) obtained PBP of 10.39 ± 0.44 mg/g dry SP. Freezing time of 16 days (with or without stirring) obtained relatively high PBP yields, namely 68.15 ± 2.89 mg/g dry SP. The optimum solvent ratio to biomass (S/B) was 100 mL/g dry SP. The antioxidant activity of PBP at the optimum condition, as indicated by the IC₅₀ value, was 47.19 ± 0.04 mg/L (from fresh SP) and 42.63 ± 0.08 mg/L (from dry SP).

Keywords: *freezing-thawing, phycobiliprotein, phycocyanin, Spirulina platensis, stirring*

PENDAHULUAN

Spirulina platensis (SP) merupakan salah satu mikroalga *cyanobacteria* multiseluler dan mempunyai filamen. SP sangat populer di dunia kesehatan dan industri makanan. Mikroalga ini bisa hidup di air laut dan air tawar, mudah dipanen dan diproses. Budidaya SP dapat dilakukan di kolam dengan media air bersih, maupun air yang telah diresirkulasi selama satu bulan (Yuan et al., 2019). Kandungan makro dan mikronutrien dari SP sangat tinggi. SP mengandung protein, lemak, vitamin, mineral (Soni et al., 2017) dan antioksidan (Fithriani et al., 2015) terutama fikosianin dan flavonoid (Notonegoro et al., 2018). *Spirulina* dianggap sebagai makanan lengkap, suplemen untuk menanggulangi kekurangan gizi di negara-negara berkembang. *Spirulina* aman untuk dikonsumsi manusia hingga dosis 4 gram/70 kg berat badan (Murtini et al., 2010), bisa digunakan sebagai makanan suplemen, maupun obat-obatan (Zheng et al., 2020). Tablet *Spirulina* yang diperkaya dengan minyak ikan mata tuna dapat digunakan oleh ibu hamil trimester pertama karena kaya akan asam amino dan omega-3 (Huriyah et al., 2019).

Fikobiliprotein merupakan komponen terbesar dari protein yang terdapat pada SP. Protein tersebut mudah larut dalam air, terdiri dari *phycocyanin*, *allophycocyanin*, dan *phycoerythrin* (Hsieh-Lo et al., 2019). Tiap komponen mempunyai karakteristik warna tersendiri dan dapat menangkap cahaya pada panjang gelombang tertentu. *Phycocyanin* menyerap cahaya pada panjang gelombang 615 nm, *allophycocyanin* 652 nm, dan *phycoerythrin* 562 nm. Konsentrasi ketiga komponen tersebut diukur menggunakan alat spektrofotometer pada panjang gelombang 562 nm, 615 nm, dan 652 nm (Rodrigues et al., 2018).

Beberapa peneliti telah mempelajari berbagai metode ekstraksi fikosianin dan fikobiliprotein dari SP antara lain ultrasonikasi (Chia et al., 2019; Rodrigues et al., 2018; Tavanandi et al., 2018). Ekstraksi menggunakan *microwave* juga telah dilakukan (Chia et al., 2019; Rodrigues et al., 2020). Metode *freezing-thawing* merupakan metode yang cukup efektif karena sekaligus untuk menyimpan hasil ekstraksi (Chia et al., 2019). Namun demikian, pada beberapa penelitian sebelumnya, suhu yang digunakan dalam proses ekstraksi ini cukup rendah yaitu -20 sampai -40°C (Tavanandi et al., 2018), dan menggunakan 4-6 siklus *freezing-thawing*. Hal ini tentunya kurang hemat energi bila dibandingkan dengan 1 siklus *freezing-thawing*. Sulistiawati (2022) telah mempelajari kondisi optimum *freezing-thawing* satu siklus dengan suhu sedikit di bawah 0°C (suhu pembekuan sekitar -3°C), menggunakan pelarut air suling. Hasil fikosianin relatif baik (*yield*

84,21%) pada kadar air sebelum pembekuan sekitar 80%. Pada kadar air ini, dinding sel SP dapat pecah secara optimal, sehingga ekstraksi fikosianin lebih mudah dilakukan dengan penyaringan vakum saja. Proses yang dijalankan tersebut belum menerapkan pengadukan.

Beberapa peneliti telah mempelajari metode ekstraksi dengan pengadukan, namun menggunakan pelarut yang mahal, seperti: cairan protik-ionik (Rodrigues et al., 2019), cairan dua fase (Chia et al., 2019), yang cenderung tidak ramah lingkungan. Rodrigues et al. (2019) menerapkan pengadukan dengan pemanasan, dan menggunakan solven protik-ionik. Proses pemanasan dapat merusak PBP, karena terjadi denaturasi protein (Wang et al., 2023). Larutan garam juga dapat digunakan sebagai pelarut, namun pada kadar yang tinggi akan merusak protein (Wang et al., 2023). Metode pengadukan dengan pelarut akuades perlu dipelajari lebih mendalam, karena metode ini paling mudah untuk diterapkan pada skala besar (industri).

Tingkat keberhasilan ekstraksi biokomponen dari serbuk SP kering dengan perlakuan awal *freezing-thawing* dipengaruhi oleh kadar air yang berada dalam SP. Kadar air yang tepat dalam biomassa (yaitu sekitar 80% basis basah) dapat memecah dinding sel dengan baik, sehingga diperoleh hasil ekstraksi yang optimum. Waktu *freezing* perlu diteliti lebih lanjut untuk mendapatkan waktu yang optimum (Sulistiawati et al., 2023). Ekstraksi yang dijalankan pada penelitian tersebut belum melibatkan pengadukan. Perlu diteliti proses ekstraksi PBP dari SP segar (basah) agar dapat dilakukan penghematan energi pengeringan. Bahan baku SP kering memerlukan energi untuk menguapkan air dari kondisi segar menjadi kondisi kering. Kondisi bahan baku kering lebih awet, namun memerlukan energi untuk proses pengeringan. Penelitian ini bertujuan mempelajari ekstraksi fikobiliprotein dari SP secara pengadukan (menggunakan pengaduk magnetik) dan *freezing thawing*, serta membandingkan hasil dari kedua metode tersebut. Variabel yang dipelajari adalah waktu pengadukan, waktu pembekuan, serta perbandingan banyaknya pelarut (air suling) terhadap biomassa. Dari penelitian ini diharapkan dapat diperoleh informasi kondisi operasi yang bisa direkomendasikan untuk diterapkan dalam dunia industri.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan adalah *Spirulina platensis* segar (basah), diperoleh dari CV. Paring

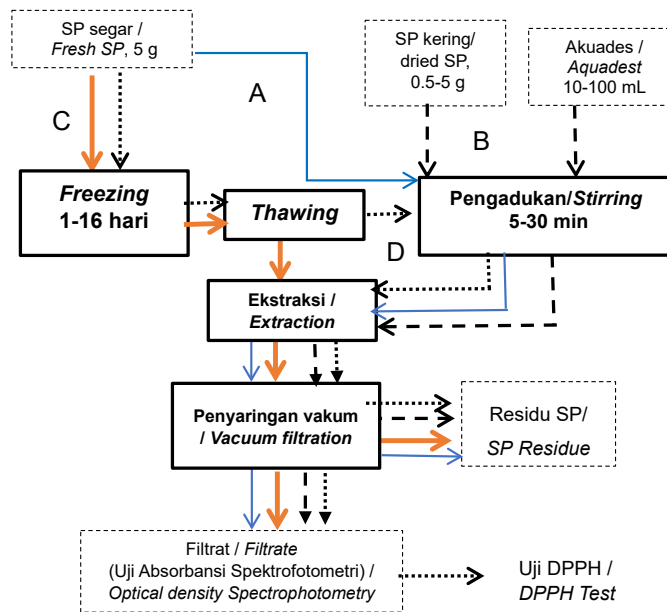
Spirulina (Maguwoharjo, Sleman, Yogyakarta), yang mempunyai kadar air 69,74-79,91 % basis basah. *Spirulina platensis* kering mempunyai kadar air 1,08-1,12%. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah air suling (mempunyai densitas 1,00 g/mL), diperoleh dari CV. Jaya Santosa, Yogyakarta.

Metode

Metode ekstraksi secara umum dan penentuan kadar fikosianin serta fikobiliprotein mengacu pada Rodrigues et al. (2020), dengan modifikasi pelarut menggunakan air suling. Pada penelitian ini dilakukan 2 metode ekstraksi, yaitu: pengadukan, dan *freezing-thawing*. *Spirulina platensis* basah (segar) sebanyak 5 g ditambah air suling 100 mL, dilakukan pengadukan 1 hingga 30 menit. Pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* (Cimarec-Thermoscientific HP88857105, batang pengaduk 4 cm), dilakukan pada suhu ruangan dengan kecepatan 300 putaran per menit. Selanjutnya dilakukan penyaringan (menggunakan corong Buchner berdiameter 100 mm, *flask filtering*

500 mL, ukuran pori tidak spesifik), yang dilengkapi dengan pompa vakum (Rocker 810, 200 W, 1/3 HP). Filtrat yang dihasilkan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer (Genesys 20-Thermoscientific, Cuvette OG 104 *optical glass* 3,5 mL, blanko berupa akuades) pada panjang gelombang 562, 615, dan 652 nm. Prosedur penelitian dari *Spirulina platensis* segar dengan metode pengadukan dapat dilihat pada Gambar 1A. *Spirulina platensis* kering (sebanyak 0,5 hingga 5 g) ditambah air suling bervariasi (5 hingga 100 mL) diaduk dengan waktu yang bervariasi, yaitu 1 hingga 30 menit. Selanjutnya dilakukan pengadukan, ekstraksi, penyaringan vakum, dan uji absorbansi seperti terlihat pada Gambar 1B.

Pada penelitian ini dilakukan pula ekstraksi melalui metode *freezing* mulai 1 hari hingga 16 hari, tanpa pengadukan, dan dengan pengadukan. Pada metode *freezing-thawing*, proses *thawing* dilakukan dengan menambah air suling sesuai variasi yang diinginkan, dengan suhu air sesuai suhu ruangan. Suhu campuran tidak diatur, disaring dengan corong Buchner dan pompa vakum. Adapun



- Keterangan/ Notes:
- > A: Pengadukan dari SP segar / *Stirring of Fresh SP*
 - - -> B: Pengadukan dari SP kering / *Stirring of Dried SP*
 - > C: *Freezing-thawing* dari SP segar / *Freezing-thawing of Fresh SP*
 -> D: *Freezing-thawing* dan pengadukan dari SP segar / *Freezing-thawing and Stirring of Fresh SP*

Gambar 1. Prosedur penelitian untuk metode: A) pengadukan dari SP segar, B) pengadukan dari serbuk SP kering, C) *freezing-thawing* dari SP segar, D) gabungan *freezing-thawing* dan pengadukan dari SP segar

Figure 1. The experimental procedure of the method: a) stirring from fresh SP, b) stirring from dried SP powder, c) *freezing-thawing* from fresh SP, d) combination of *freezing-thawing* and stirring

metode *freezing-thawing* tersaji pada Gambar 1C, sedangkan gabungan *freezing-thawing* dan pengadukan dapat dilihat pada Gambar 1D. Kadar fikosianin, dan fikobiliprotein dihitung berdasarkan persamaan sebagai berikut (Rodrigues et al., 2020):

$$CPC = (A_{615} - 0.474 \times A_{652}) / 5.34 \quad (1)$$

$$APC = (A_{652} - 0.208 \times A_{615}) / 5.09 \quad (2)$$

$$PE = (A_{562} - 0.208 \times CPC - 0.849 \times APC) / 9.62 \quad (3)$$

$$PcT = CPC + APC \quad (4)$$

$$PBP = CPC + APC + PE \quad (5)$$

dengan CPC adalah konsentrasi fikosianin (g/L), APC adalah konsentrasi *allophycocyanin* (g/L), dan PE adalah konsentrasi *phycoerythrin* (g/L). PcT, yaitu konsentrasi fikosianin total merupakan jumlah dari konsentrasi fikosianin dan *allophycocyanin*. PBP adalah konsentrasi fikobiliprotein, merupakan jumlah dari fikosianin, *allophycocyanin*, dan *phycoerythrin*. A_{562} , A_{615} , dan A_{652} adalah absorbansi filtrat hasil ekstraksi pada panjang gelombang 562, 615, dan 652 nanometer yang dibaca dari alat spektrofotometer (Genesys 20-Thermoscientific, Cuvette OG 104 optical glass 3,5 mL, blanko berupa akuades). Eksperimen dilakukan dengan 3 kali ulangan.

Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) mengacu pada Pan-utai & lamtham (2019), dilakukan terhadap hasil ekstraksi fikobiliprotein yang terbaik dari SP segar maupun kering. Angka IC_{50} (*inhibitor concentration 50%*) didefinisikan sebagai konsentrasi fikobiliprotein yang menghambat 50% konsentrasi DPPH mula-mula, yang ditandai dengan menurunnya absorbansi sebesar 50% (Abdullah et al., 2020; Pan-utai & lamtham, 2019).

Analisis statistik anova satu arah, dengan $\alpha=0,05$, menggunakan *software* SPSS 26. Jika $Sig>0,05$, maka H_0 diterima, artinya tidak ada perbedaan

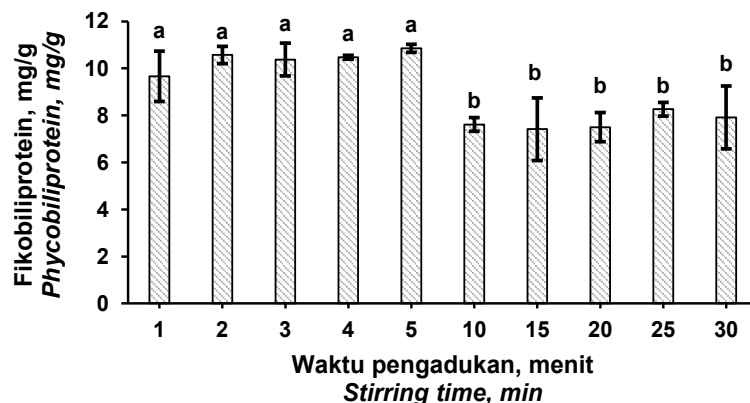
signifikan di antara perlakuan. Jika $Sig<0,05$, maka H_0 ditolak, artinya ada perbedaan signifikan di antara perlakuan. Selanjutnya dilakukan Uji Duncan, untuk melihat adanya perbedaan di antara perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Waktu Pengadukan

Pengaruh waktu pengadukan *Spirulina platensis* kering dari 1 hingga 5 menit dan 10 hingga 30 menit terhadap hasil fikobiliprotein dapat dilihat pada Gambar 2 dan berdasarkan hasil analisis statistik (uji Duncan), dapat dilihat bahwa terdapat 2 kelompok waktu pengadukan, yaitu: a) 1 hingga 5 menit, dan b) 10 hingga 30 menit. Pengadukan dalam waktu 1 hingga 5 menit, pengaruh waktu tidak signifikan ($\alpha=0,05$), demikian pula dengan waktu 10 hingga 30 menit. Rerata hasil fikobiliprotein untuk waktu pengadukan 1-5 menit adalah $10,39 \pm 0,44$ mg/g SP kering, sedangkan untuk 10-30 menit $7,74 \pm 0,35$ mg/g SP kering. Waktu pengadukan setelah 5 menit menurunkan hasil fikobiliprotein, diduga karena adanya fikobiliprotein yang teroksidasi, sehingga waktu pengadukan yang disarankan maksimal 5 menit. Hasil ini lebih rendah dari Rodrigues et al. (2020), karena pelarut yang digunakan berbeda, dan kondisi pengadukan juga berbeda. Perbedaan sumber bahan baku *Spirulina* (karena adanya berbagai faktor pada saat kultivasi, yaitu: pencahayaan, suhu, nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan mikroalga) juga dapat mempengaruhi fikobiliprotein yang diperoleh (Hsieh-Lo et al., 2019).

Pemrosesan biomassa SP segar harus segera dilakukan setelah panen, karena SP yang diletakkan di ruang terbuka mudah teroksidasi. Proses ekstraksi memerlukan waktu penyaringan antara 30 menit hingga 1 jam, sehingga mempengaruhi kualitas fikobiliprotein yang diperoleh dari sampel berikutnya. Sampel yang diproses pada hari



Gambar 2. Pengaruh waktu pengadukan terhadap hasil fikobiliprotein dari bahan baku SP kering
 Figure 2. The effect of stirring time on phycobiliprotein yield from dry SP raw material

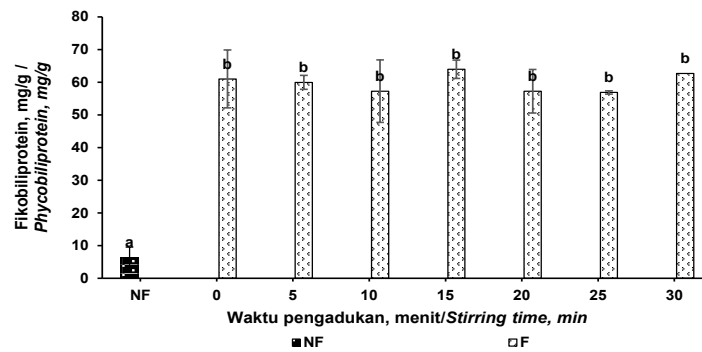
berikutnya harus dimasukkan ke dalam *freezer*, agar SP tidak membusuk. Pengaruh waktu pengadukan terhadap hasil fikobiliprotein pada ekstraksi SP segar (basah) dengan dan tanpa *freezing* dilihat pada Gambar 3 yang menunjukkan bahwa adanya proses pembekuan pada SP segar sangat signifikan terhadap hasil ekstraksi fikobiliprotein. Hal ini mungkin terjadi karena adanya pemecahan dinding sel yang lebih mudah selama proses *freezing*, akibat pembengkakan volume SP pada saat pembekuan. Volume es lebih besar daripada volume air, dan pada saat pembekuan terjadi perubahan volume air yang berada di dalam sel, yang memecah dinding sel SP. Adanya energi yang dihasilkan oleh perbedaan tekanan yang terjadi pada proses pembekuan dapat menyebabkan pecahnya dinding sel (Dombrovsky et al., 2015; Mulot et al., 2019). Jika dinding sel pecah, maka komponen bioaktif yang terdapat di dalam sel menjadi mudah keluar saat dilakukan proses ekstraksi. Proses pengadukan saja tidak efektif membantu mengeluarkan fikobiliprotein dari dalam sel, dibandingkan dengan kombinasi pengadukan dan *freezing* (Tavanandi et al., 2018),

yang dapat menghasilkan fikobiliprotein hampir 10 kali lipat. Pada SP yang mengalami *freezing*, variasi waktu pengadukan tidak menunjukkan perbedaan hasil ekstraksi yang signifikan ($\alpha=0,05$).

Pengaruh Waktu Pembekuan (*freezing*)

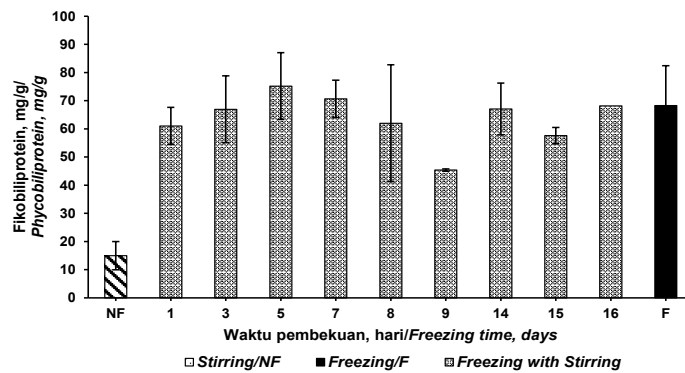
Kondisi *freezing* dilakukan pada suhu 0 hingga -3°C. Volume pembekuan sesuai dengan ukuran sampel basah yaitu 5 g (sekitar 5 mL dengan sedikit pemaian pada saat membeku). Kecepatan *freezing* tidak diteliti, dan diperkirakan terjadi pembekuan sempurna dalam waktu 2 jam (Sulistiawati, 2022). Pengaruh waktu pembekuan dari bahan baku SP segar terhadap hasil fikobiliprotein dapat dilihat pada Gambar 4.

Kinerja proses pembekuan dibandingkan dengan proses pengadukan tanpa pembekuan (*stirring*, *non-freezing* atau NF), dan pembekuan tanpa pengadukan (F). Perlakuan pembekuan memberikan pengaruh yang signifikan terhadap hasil fikobiliprotein, bila dibandingkan dengan perlakuan pengadukan saja tanpa pembekuan (*stirring*/*non-*



Gambar 3. Pengaruh waktu pengadukan terhadap hasil fikobiliprotein dari bahan baku SP basah (segar) melalui perlakuan *freezing* (NF: tanpa *freezing*, F: dengan *freezing*)

Figure 3. The effect of stirring time on phycobiliprotein from wet (fresh) SP raw material through freezing treatment (NF: without freezing, F: freezing)



Gambar 4. Pengaruh waktu pembekuan terhadap hasil fikobiliprotein dari bahan baku SP basah melalui perlakuan *freezing* saja tanpa pengadukan

Figure 4. The effect of freezing time on phycobiliprotein from wet SP raw material through freezing without stirring

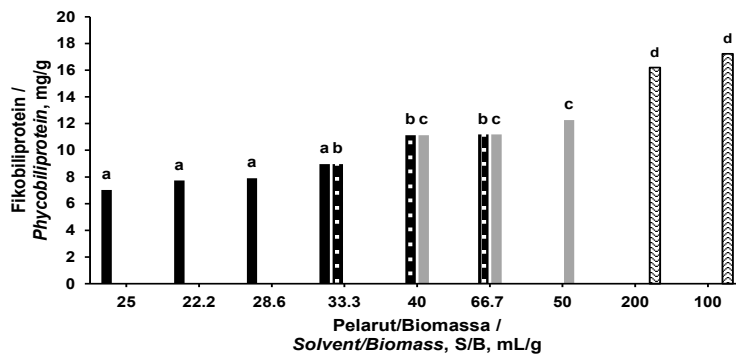
freezing). Berdasarkan hasil uji Duncan, diperoleh kesimpulan bahwa variasi waktu pembekuan tidak memberikan pengaruh yang signifikan ($\alpha=0,05$) terhadap hasil fikobiliprotein. Namun demikian, waktu pembekuan yang semakin lama, cenderung menurunkan hasil fikobiliprotein. Pada penelitian sebelumnya, pembekuan dari bahan baku SP kering disarankan maksimum 3 bulan, sedangkan pembekuan dari SP segar yang basah disarankan maksimal 2 minggu karena muncul aroma yang kurang sedap, dan hasil ekstraksi berbusa (Sulistiawati, 2022). Agar mudah penanganannya, pembekuan SP minimal 1 hari (diperoleh PBP $60,96 \pm 4,26$ mg/g SP kering). Pembekuan *Spirulina platensis* selama 16 hari menghasilkan fikobiliprotein sebanyak $68,15 \pm 2,89$ mg/g SP kering, namun pada ekstrak timbul busa serta aroma yang tidak sama dengan SP segar.

Pengaruh Perbandingan Solven terhadap Biomassa (S/B)

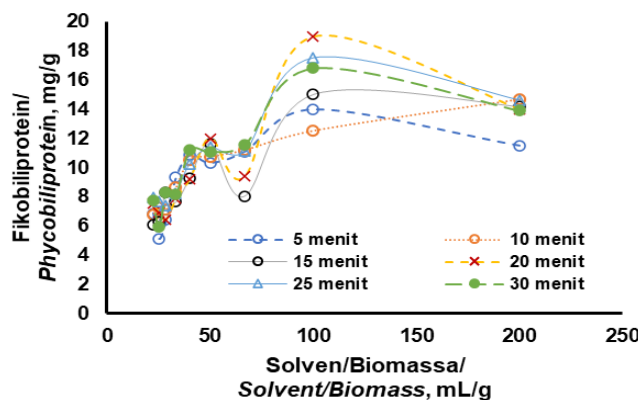
Pengaruh perbandingan solven/biomassa terhadap hasil fikobiliprotein disajikan pada Gambar 5, mengilustrasikan bahwa semakin besar nilai

perbandingan pelarut terhadap biomassa, semakin besar pula hasil fikobiliprotein yang diperoleh. Semakin besar (S/B), semakin besar pula hasil fikobiliprotein. Namun, setelah mencapai S/B 100 mL/g, konsentrasi fikobiliprotein sama. Hal ini disebabkan karena kondisi ekstraksi telah mendekati keseimbangan massanya, yaitu konsentrasi massa PBP di luar telah seimbang dengan konsentrasi PBP di dalam sel. Fenomena perpindahan massa atau peristiwa transfer massa biokomponen (fikobiliprotein) dari dalam sel menuju ke dinding sel yang pecah, lalu diekstraksi oleh pelarut akan mencapai maksimal pada keadaan keseimbangan massanya (Dewati et al., 2020).

Pengaruh perbandingan solven/biomassa pada berbagai waktu terhadap hasil ekstraksi fikobiliprotein dari bahan baku SP kering dapat disajikan pada Gambar 6. Pada Gambar 6 terlihat bahwa untuk nilai S/B yang lebih besar dari 100, hasil fikobiliprotein cenderung tetap. Dengan demikian, nilai S/B yang optimum adalah 100 mL/g, dengan hasil tertinggi pada waktu pengadukan 20 menit (tanpa *freezing*) sebesar 21,03 mg/g SP kering. Wang et al. (2023) menggunakan



Gambar 5. Pengaruh perbandingan solven/biomassa dari bahan baku SP kering terhadap hasil fikobiliprotein
 Figure 5. The effect of solvent/biomass ratio from dry SP raw material on phycobiliprotein



Gambar 6. Pengaruh perbandingan solven/biomassa (S/B) terhadap hasil fikobiliprotein dari bahan baku SP kering

Figure 6. The effect of solvent/biomass (S/B) ratio on phycobiliprotein yield from dry SP raw material

pelarut larutan NaCl dengan konsentrasi NaCl 50 g/L dengan rasio 30,3 mL/g. Hasil yang diperoleh lebih tinggi dari hasil penelitian ini, yaitu 102,4 mg/g SP kering. Hasil penelitian Wang et al (2023) juga menunjukkan bahwa ekstraksi menggunakan pelarut air selama 24 jam, diperoleh hasil PBP 75,8 mg/g SP kering.

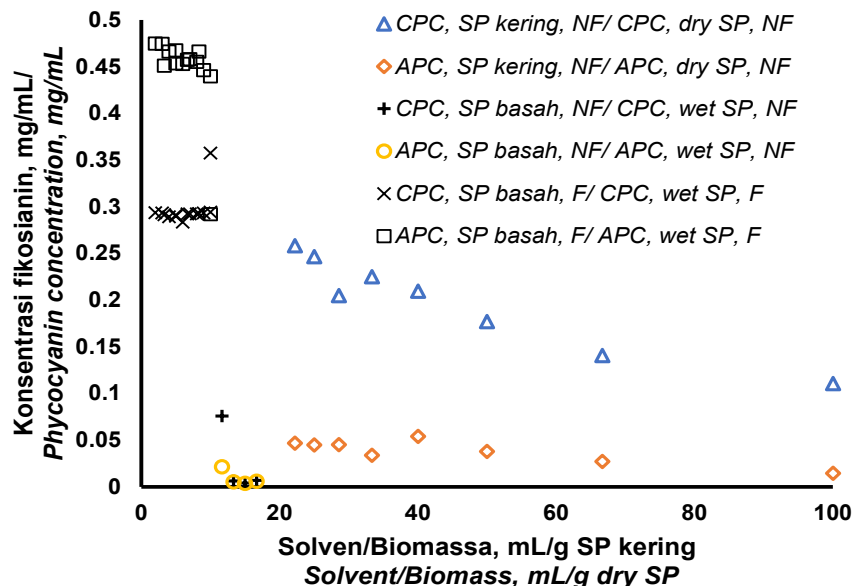
Fikosianin terdiri dari *chlorophycocyanin* (CPC) dan *allophycocyanin* (APC), merupakan bagian dari fikobiliprotein. Ekstraksi SP segar dan SP kering dengan pelarut akuades (variasi nilai S/B) melalui metode pengadukan selama 10 menit dengan dan tanpa *freezing* menghasikan CPC dan APC yang konsentrasinya dapat dilihat pada Gambar 7. Fikoeritrin (PE) tidak ditampilkan pada Gambar 7 karena nilainya relatif sangat kecil (yaitu lebih kecil dari 0,05 mg/mL).

Gambar 7 menunjukkan konsentrasi CPC dan APC hasil ekstraksi SP basah tanpa *freezing* relatif lebih rendah bila dibandingkan dengan proses *freezing*. Hasil ekstraksi dari metode *freezing* hampir 10 kali lebih tinggi daripada hasil tanpa *freezing*. Hal ini disebabkan oleh peran proses pembekuan yang dapat memecah dinding sel SP, sehingga saat ekstraksi komponen fikosianin mudah keluar (Tavanandi et al., 2018). Ekstraksi metode *freezing*, akan selalu diikuti dengan *thawing*, yaitu proses melelehnya es untuk kembali ke suhu ruangan. Penambahan akuades yang bersuhu ruangan (30°C) mempercepat proses *thawing*, sehingga

proses filtrasi dapat segera dilakukan (Sulistiawati, 2022). Pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* belum cukup kuat untuk memecah dinding sel. Jika dipraktekkan pada skala industri, diperlukan jenis pengaduk yang besar, dan akan timbul gesekan yang menyebabkan kenaikan suhu, sehingga perlu dilakukan kombinasi perlakuan. Air suling sebagai solven dalam metode pengadukan belum efektif memecah dinding sel *Spirulina*, yang mempunyai filamen cukup kuat, sehingga perlu dicoba solven garam khlorida, jika ingin digunakan pengadukan saja (Wang, 2023).

Aktivitas Antioksidan

Uji DPPH hanya dilakukan terhadap hasil fikobiliprotein terbaik, yaitu pada range konsentrasi fikobiliprotein 0,8-1,0 mg/mL, *freezing* 1 hari, pengadukan 15 menit. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, diperoleh angka IC_{50} pada konsentrasi fikobiliprotein adalah $47,19 \pm 0,04$ mg/L (dari SP segar/basah), dan $42,63 \pm 0,08$ mg/L (dari SP kering). Semakin kecil angka IC_{50} , maka semakin baik sifat antioksidannya. Antioksidan yang sangat kuat mempunyai nilai IC_{50} kurang dari 50 ppm, sedangkan antioksidan yang lemah nilai IC_{50} -nya di atas 150 ppm (Agustini et al., 2015). Fikobiliprotein yang dihasilkan dari SP pada penelitian ini tergolong antioksidan yang sangat kuat karena nilai IC_{50} -nya di bawah 50 ppm. Pan-utai & lamtham (2019) menghasilkan ekstrak



Gambar 7. Pengaruh perbandingan solven/biomassa (S/B) terhadap hasil fikosianin dari bahan baku SP basah dan kering, dengan *freezing* (F) atau tanpa *freezing* (NF)

Figure 7. The effect of solvent/biomass (S/B) ratio on phycocyanin yield from wet and dry raw material, with *freezing* (F) or without *freezing* (NF)

fikobiliprotein dengan nilai IC_{50} sebesar 100 ppm. Agustini et al. (2015) memperoleh angka IC_{50} 33 ppm dari *Spirulina* kering, sedangkan dari *Spirulina* segar diperoleh angka 163,6 ppm. Perbedaan hasil yang diperoleh di antara beberapa peneliti dapat terjadi karena adanya perbedaan kualitas bahan baku.

KESIMPULAN

Dapat disimpulkan bahwa ekstraksi melalui metode *freezing-thawing* memberikan hasil fikobiliprotein yang cukup signifikan bila dibandingkan dengan metode pengadukan saja. Waktu pembekuan yang diperlukan paling sedikit 1 hari, agar diperoleh ekstrak yang optimal (hasil PBP $60,96 \pm 4,26$ mg/g SP kering), dan paling lama 16 hari (hasil PBP $68,15 \pm 2,89$ mg/g SP kering). Lamanya waktu pengadukan tidak berpengaruh signifikan terhadap hasil ekstraksi. Pengadukan 1-5 menit (tanpa pembekuan) menghasilkan PBP $10,39 \pm 0,44$ mg/g SP kering. Perbandingan pelarut terhadap biomassa optimum pada 100 mL/g SP kering. Aktivitas antioksidan fikobiliprotein ditunjukkan dengan nilai IC_{50} sebesar $47,19 \pm 0,04$ ppm (dari SP segar), dan $42,63 \pm 0,08$ ppm (dari SP kering).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Universitas Ahmad Dahlan (Yogyakarta) dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penelitian Nomor PD-077/SP3/LPPM-UAD/VII/2022.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, N.A., Zulkiflee, N., Zaini, S.N.Z., Taha, H., & Usman, A. (2020). Phytochemicals, mineral contents, antioxidants, and antimicrobial activities of propolis produced by Brunei stingless bees *Geniotrigona thoracica*, *Heterotrigona itama*, and *Tetrigona binghami*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27, 2902–2911.
- Agustini, T.W., Suzery, M., Sutrisnanto, D., Ma'ruf, W.F., & Hadiyanto. (2015). Comparative Study of Bioactive Substances Extracted from Fresh and Dried *Spirulina* sp. *Procedia Environmental Sciences*, 23, 282-289.
- Chia, S. R., Chew, K. W., Show, P. L., Xia, A., Ho, S. H., & Lim, J. W. (2019). *Spirulina platensis* based biorefinery for the production of value-added products for food and pharmaceutical applications. *Bioresource Technology*, 289(June), 121727. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.121727>
- Dewati, P.R., Rochmadi, Rohman, A., & Budiman, A. (2020). A Preliminary Study of Extraction and Purification Processes of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* as Natural Antioxidant. *Material Science and Engineering*, 778, 012032.
- Dombrovsky, L.A., Nenarokomova, N.B., Tsiganov, D.I., & Zeigarnik, Y.A. (2015). Modeling of Repeating Freezing of Biological Tissues and Analysis of Possible Microwave Monitoring of Local Regions of Thawing. *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 89, 894–902.
- Fithriani, D., Amini, S., Melanie, S., & Susilowati, R. (2015). Uji Fitokimia, Kandungan Total Fenol dan Aktivitas Antioksidan Mikroalga *Spirulina* sp., *Chlorella* sp., dan *Nannochloropsis* sp. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 10(2), 101. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v10i2.270>
- Hsieh-Lo, M., Castillo, G., Ochoa-Becerra, M. A., & Mojica, L. (2019). Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability. *Algal Research*, 42(June), 101600. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101600>
- Huriyah, S. B., Setyaningsih, I., & Trilaksana, W. (2019). Formulasi Tablet Suplemen *Spirulina* yang Diperkaya dengan Virgin Fish Oil Mata Tuna (*Thunnus* sp.). *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 14(2), 117. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v14i2.606>
- Mulot, V., Benkhelifa, H., Pathier, D., Ndoye, F., & Flick, D. (2019). "Experimental and numerical characterization of food dehydration during *freezing*", *Journal of Food Engineering*, 263, 13–24.
- Murtini, J.T., Triwibowo, R., Indriati, N., & Ariyani, F. (2010). Uji Toksisitas Subkronik *Spirulina platensis* secara in-vivo. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 5(2), 123-133. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v5i2.416>
- Notonegoro, H., Setyaningsih, I., & Tarman, K. (2018). Kandungan Senyawa Aktif *Spirulina platensis* yang Ditumbuhkan pada Media Walne dengan Konsentrasi $NaNO_3$ Berbeda. *Jurnal Pascapanen Dan Bioteknologi Kelautan Dan Perikanan*, 13(2), 111. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v13i2.555>
- Pan-utai, W., & Iamtham, S. (2019). Extraction, purification and antioxidant activity of phycobiliprotein from *Arthrospira platensis*. *Process Biochemistry*, 82, 189–198.
- Rodrigues, R. D. P., de Castro, F. C., Santiago-Aguiar, R. S. de, & Rocha, M. V. P. (2018). Ultrasound-assisted extraction of phycobiliproteins from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* using protic ionic liquids as solvent. *Algal Research*, 31(January), 454–462. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.02.021>
- Rodrigues, R.D.P., de Lima, P.F., de Santiago-Aguiar, R.S., & Rocha, M.V.P. (2019). Evaluation of protic ionic liquids as potential solvents for the heating extraction of phycobiliproteins from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*. *Algal Research*, 38, 101391.
- Rodrigues, R. D. P., Silva, A. S. e., Carlos, T. A. V., Bastos, A. K. P., de Santiago-Aguiar, R. S., & Rocha, M. V. P. (2020). Application of protic ionic liquids in the microwave-assisted extraction of phycobiliproteins from *Arthrospira platensis* with antioxidant activity.

- Separation and Purification Technology*, 252(May). <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2020.117448>
- Soni, R. A., Sudhakar, K., & Rana, R. S. (2017). *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 69, 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
- Sulistiawati, E. (2022). Studi Ekstraksi Komponen Bioaktif Antioksidan (Phycocyanin) dari *Spirulina platensis* dengan Perlakuan Awal *Freezing-Thawing*. *Dissertasi*, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Sulistiawati, E., Rochmadi, R., Hidayat, M., & Budiman, A. (2023). Enhancement of Phycocyanin Extraction from Dry *Spirulina platensis* Powder by *Freezing-Thawing* Pre-treatment. *International Journal of Technology*, 14(4), pp.780-790.
- Tavanandi, H. A., Mittal, R., Chandrasekhar, J., & Raghavarao, K. S. M. S. (2018). Simple and efficient method for extraction of C-Phycocyanin from dry biomass of *Arthospira platensis*. *Algal Research*, 31(February), 239–251. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.02.008>
- Wang, F., Yu, X., Cui, Y., Xu, L., Huo, S., Ding, Z, Hu, Q, Xie, W., Xiao, H., & Zhang, D. (2023). Efficient extraction of phycobiliproteins from dry biomass of *Spirulina platensis* using sodium chloride as extraction enhancer. *Food Chemistry*, 406, 135005.
- Yuan, D., Yao, M., Wang, L., Li, Y., Gong, Y., & Hu, Q. (2019). Effect of recycling the culture medium on biodiversity and population dynamics of bio-contaminants in *Spirulina platensis* mass culture systems. *Algal Research*, 44(June), 101718. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101718>
- Zheng, J. X., Yin, H., Shen, C. C., Zhang, L., Ren, D. F., & Lu, J. (2020). Functional and structural properties of *spirulina* phycocyanin modified by ultra-high-pressure composite glycation. *Food Chemistry*, 306(June 2019), 125615. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125615>