



**SKRIPSI – TK 141581**

**EKSTRAKSI SENYAWA FITOKIMIA DARI  
ALGA *EUCHEUMA COTTONII* DAN  
*GRACILARIA SP* MENGGUNAKAN CO<sub>2</sub>  
SUPERKRITIS DAN AIR SUBKRITIS  
SEBAGAI PELARUT**

Dwi Setyorini  
NRP. 2313100001  
Ridlo Aanisah  
NRP. 2313100015

**Dosen Pembimbing**

Dr. Siti Machmudah, S.T., M.Eng.  
NIP. 197305121999032001  
Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M. Eng.  
NIP. 195209161980031002

DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA  
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI  
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER  
SURABAYA 2017



**FINAL PROJECT – TK 141581**

**PHYTOCHEMICAL COMPOUND  
EXTRACTION FROM ALGAE *EUCHEUMA  
COTTONII* AND *GRACILARIA SP* BY USING  
SUPERCRITICAL CO<sub>2</sub> AND SUB-CRITICAL  
WATER AS A SOLVENT**

Dwi Setyorini  
NRP. 2313100001  
Ridlo Aanisah  
NRP. 2313100015

**Advisor**

Dr. Siti Machmudah, S.T., M.Eng.  
NIP. 197305121999032001  
Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M. Eng.  
NIP. 195209161980031002

DEPARTMENT OF CHEMICAL ENGINEERING  
FACULTY OF INDUSTRIAL TECHNOLOGY  
SEPULUH NOPEMBER INSTITUTE OF TECHNOLOGY  
SURABAYA 2017

# LEMBAR PENGESAHAN

## EKSTRAKSI SENYAWA FITOKIMIA DARI ALGA *EUCHEUMA COTTONII* DAN *GRACILARIA SP* MENGUNAKAN CO<sub>2</sub> SUPERKRITIS DAN AIR SUBKRITIS SEBAGAI PELARUT

Diajukan Untuk Memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar  
Sarjana Teknik Kimia pada Program Studi S-1  
Departemen Teknik Kimia  
Fakultas Teknologi Industri  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya


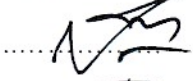
Oleh :

**DWI SETYORINI**  
**RIDLO AANISAH**

**2313 100 001**  
**2313 100 015**

Disetujui Oleh Tim Penguji Tugas Akhir :

1. Dr. Siti Machmudah, S.T., M. Eng.  
(Pembimbing I)
2. Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng.  
(Pembimbing II)
3. Prof. Dr. Ir. Achmad Roesyadi , DEA  
(Penguji I)
4. Dr. Tantular Nurtono, S.T., M. Eng.  
(Penguji II)
5. Dr. Widiyastuti, S.T., M.T.  
(Penguji III)

  
.....  
  
.....  
  
.....  
  
.....  
  
.....



# **EKSTRAKSI SENYAWA FITOKIMIA DARI ALGA *EUCHEUMA COTTONII* DAN *GRACILARIA SP* MENGGUNAKAN CO<sub>2</sub> SUPERKRITIS DAN AIR SUBKRITIS SEBAGAI PELARUT**

**Nama Mahasiswa** : Dwi Setyorini (2313100001)  
Ridlo Aanisah (2313100015)  
**Dosen Pembimbing** : Dr. Siti Machmudah, S.T., M.Eng  
Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng

## **ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk mengekstrak senyawa fitokimia berupa  $\beta$ -karoten, asam linoleat, karagenan, dan polifenol dari rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp* menggunakan CO<sub>2</sub> superkritis dan air subkritis sebagai pelarut. Ekstraksi menggunakan CO<sub>2</sub> Superkritis dilakukan dengan kondisi operasi tekanan 25 MPa, temperatur 60°C, laju alir CO<sub>2</sub> superkritis 15ml/min, dan laju alir Etanol 0,25 ml/min. Untuk mengetahui kandungan  $\beta$ -karoten dan asam linoleat, ekstrak yang didapat dianalisa menggunakan Spektrofotometer UV–Vis. Residu yang didapatkan dari ekstraksi dengan CO<sub>2</sub> superkritis kemudian diekstrak kembali menggunakan *Subcritical water* yang dilakukan dengan kondisi operasi yang bervariasi yaitu tekanan 3, 5, 7 MPa, temperatur 120, 140, 160, 180 °C, dan laju alir air subkritis 1 ml/min. Kandungan karagenan dianalisa menggunakan *Fourier Transform Infra Red* (FTIR), kandungan *total phenolic compound* dianalisa dengan reagen Folin Ciocalteu yang selanjutnya dianalisa menggunakan spektrofotometer uv-vis. Untuk analisa aktivitas antioksidan digunakan metode *DPPH assay* dimana larutan DPPH berperan sebagai senyawa radikal bebas.

Dari hasil penelitian diperoleh kadar  $\beta$ -karoten dan asam linoleat pada *Eucheuma cottonii* berturut-turut adalah 209,91 dan 321,025  $\mu\text{g/g}$  sampel. Kadar  $\beta$ -karoten dan asam linoleat pada *Gracilaria sp* berturut-turut adalah 219,994 dan 286,516  $\mu\text{g/g}$  sampel. Adanya kenaikan suhu operasi pada proses ekstraksi *hydrothermal* (120°C-180°C) menyebabkan peningkatan *total phenolic compound* (TPC) dan *yield* karagenan dalam ekstrak. Sama halnya dengan kenaikan tekanan pada proses ekstraksi *hydrothermal* (3 sampai 7 MPa) menyebabkan kecenderungan peningkatan *total phenolic compound* (TPC) dan *yield* karagenan dalam ekstrak. Kandungan *total phenolic compound* terbanyak *Eucheuma cottonii* pada kondisi operasi 180°C dan tekanan 7 MPa dengan kandungan TPC sebesar 18,508 mg GAE/g sampel, sedangkan, *Gracilaria sp* dengan kondisi operasi yang sama memiliki kandungan TPC sebanyak 22,47 mg GAE/g sampel. Kondisi optimum untuk mengekstrak karagenan dari kedua jenis rumput laut tersebut terjadi pada suhu 180°C dan tekanan 7 MPa dengan kandungan % *yield* karagenan pada *Eucheuma cottonii* sebesar 61,33% dan *Gracilaria sp.* sebesar 65,54% (massa karagenan/massa rumput laut kering), serta % recovery karagenan pada *Eucheuma cottonii* sebesar 95,15% dan *Gracilaria sp* sebesar 101,68%. Aktivitas antioksidan terbaik yaitu pada kondisi operasi 180°C dan 7 MPa. Pada Kondisi operasi tersebut, Nilai AE pada *Eucheuma cottonii* sebesar 0,513  $\text{min}^{-1}$  dan pada *Gracilaria sp* sebesar 0,277  $\text{min}^{-1}$ .

**Kata kunci : Aktivitas Antioksidan, Alga, Asam Linoleat, CO<sub>2</sub> Superkritis, Ekstraksi, *Eucheuma cottonii*, Fitokimia, *Gracilaria sp*, Hidrotermal, Karagenan, Polifenol,  $\beta$ -karoten,**

# **PHYTOCHEMICAL COMPOUND EXTRACTION FROM ALGAE *EUCHEUMA COTTONII* AND *GRACILARIA SP* BY USING SUPERCRITICAL CO<sub>2</sub> AND SUBCRITICAL WATER AS A SOLVENT**

**Name of student** : Dwi Setyorini (2313100001)  
Ridlo Aanisah (2313100015)  
**Advisor** : Dr. Siti Machmudah, S.T., M.Eng  
Prof.Dr.Ir. Sugeng Winardi, M.Eng

## **ABSTRACT**

*The purpose of this research is to extract phytochemical compounds (such as  $\beta$ -carotene, linoleic acids, carrageenan, and polyphenols) from *Eucheuma cottonii* and *Gracilaria sp* with supercritical CO<sub>2</sub> and subcritical water as a solvent. The CO<sub>2</sub> extraction carried out at pressure of 25 MPa, temperature of 60°C, CO<sub>2</sub> flowrate of 15 ml/min, ethanol flowrate of 0,25 ml/min. To determine the content of carotenoids and linoleic acids, extracts obtained were analyzed using a spectrophotometer UV-Vis. Subcritical water extraction carried out by the varying pressure 3, 5, 7 MPa, and temperature of 120, 140, 160, 18 °C. Carrageenan of seaweed will be analyzed using Fourier Transform Infra Red (FTIR), the total phenolic compound will be analyzed with UV-vis spectrophotometer, whereas the method to analyze the efficiency of antioxidant is DPPH assay.*

*From the research,  $\beta$ -carotene and linoleic acid content in *Eucheuma cottonii* respectively were about 209,91 and 321,025  $\mu$ g/g sample. While  $\beta$ -carotene and linoleic acid content in *Gracilaria sp* respectively is about 219,994 and 286,516  $\mu$ g/g*

sample. The increase of temperature in hydrothermal extraction process causes the increase of total phenolic compound (TPC), yield of carrageenan and antioxidant activity. Similar with the temperature, the increase of pressure in hydrothermal process cause a tend to the increase of total phenolic compound (TPC), yield of carrageenan and antioxidant activity. The highest total phenolic compound content of *Eucheuma cottonii* and *Gracilaria sp* is at temperature of 180°C and pressure of 7 MPa with TPC content of 18,508 mg GAE / g sample and 22.47 mg GAE / g sample respectively. The optimum condition for extracting carrageenan from both types of seaweed occurred at temperature 180°C and pressure 7 MPa with yield of carrageenan in *Eucheuma cottonii* equal to 61,33% and *Gracilaria sp.* equal to 65,54% (mass of karagenan / mass of dried seaweed) and %recovery of *Eucheuma cottonii* is 95,15% and *Gracilaria sp* is 101,68%. The best antioxidant activity is at operating conditions 180°C and 7MPa. In the operating conditions, the AE value of *Eucheuma cottonii* is 0,513 min<sup>-1</sup> and in *Gracilaria sp* equal to 0,277 min<sup>-1</sup>.

**Keywords:** *Algae, Antioxidant Activity, Carrageenan, Eucheuma cottonii, Extraction, Gracilaria sp, Hydrothermal, Linoleic Acid, Phytochemical, Polyphenol, Supercritical CO<sub>2</sub>, β-carotene.*

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadirat Allah SWT. yang selalu melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga kami dapat menyelesaikan skripsi kami yang berjudul:

**” Ekstraksi Senyawa Fitokimia dari Alga *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria Sp* Menggunakan CO<sub>2</sub> Superkritis dan Air Subkritis Sebagai Pelarut .”**

Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan studi program Strata-1 di Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.

Penulis menyadari dalam penyusunan skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini kami ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Kedua orang tua serta saudara-saudara kami, atas doa, bimbingan, perhatian, serta kasih sayang yang selalu tercurah selama ini.
2. Bapak Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng selaku Pembimbing dan Kepala Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
3. Ibu Dr. Siti Machmudah, ST. M.Eng. selaku Dosen Pembimbing Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran, Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS, atas bimbingan, saran, dan motivasi yang diberikan.
4. Seluruh civitas akademika Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS yang telah memberikan dukungan moril kepada penulis.
5. Keluarga besar Teknik Kimia Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS), khususnya teman-teman di Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS atas semua dukungan, semangat, serta kerjasamanya.



Kami menyadari proposal skripsi ini tidak luput dari berbagai kekurangan, untuk itu penulis mengharapkan saran dan kritik demi kesempurnaan dan perbaikannya. Akhirnya laporan Proposal skripsi ini dapat memberikan sumbangan bagi pembaca.

Surabaya, Juli 2017

Penyusun

# DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	
LEMBAR PENGESAHAN	
ABSTRAK .....	i
ABSTRACT .....	iii
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI .....	viii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
BAB I PENDAHULUAN .....	1
I.1. Latar Belakang .....	1
I.2 Perumusan Masalah/Hipotesa .....	3
I.3 Tujuan Penelitian .....	3
I.4 Manfaat Penelitian .....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	5
II.1. Rumput Laut .....	5
II.2. Kandungan Rumput Laut .....	5
II.3. Rumput Laut Merah (Rhodophyta).....	7
II.4. <i>Eucheuma cottonii</i> .....	8
II.5. <i>Gracilaria sp.</i> .....	12
II.6. Fitokimia.....	14
II.7. Karotenoid .....	17
II.8. Lipid dan Asam Lemak .....	19
II.9. Ekstraksi Pelarut .....	20
II.10. Ekstraksi Fluida Superkritis.....	22
II.11. Fluida Superkritis.....	23
II.12. Karbon dioksida Superkritis .....	26
II.13. Karaginan.....	28
II.14. Ekstraksi <i>Hydrothermal</i> .....	30
II.15. Penelitian Terdahulu.....	32
BAB III METODE PENELITIAN .....	35
III.1 Bahan dan Alat .....	35
III.2 Prosedur Eksperimen.....	40

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	49
IV.1 Ekstraksi CO <sub>2</sub> Superkritis .....	49
IV.2 Ekstraksi Air Subkritis .....	50
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	75
V.1 Kesimpulan.....	75
V.2 Saran.....	75
DAFTAR NOTASI.....	xv
DAFTAR PUSTAKA.....	xvii
APPENDIKS.....	xxv

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	<i>Eucheuma cottonii</i> .....	10
Gambar 2.2.	<i>Gracilaria sp.</i> .....	13
Gambar 2.3.	Struktur kimia karotenoid pada alga merah .....	18
Gambar 2.4.	Diagram fasa CO <sub>2</sub> .....	22
Gambar 2.5.	Viskositas CO <sub>2</sub> pada beberapa temperatur dan tekanan .....	27
Gambar 2.6.	Difusitas pada beberapa temperatur dan tekanan .....	27
Gambar 2.7.	Struktur kimia kappa karagenan .....	29
Gambar 2.8.	Struktur kimia iota karagenan .....	29
Gambar 2.9.	Struktur kimia lambda karagenan .....	29
Gambar 2.10.	P-T Fase diagram untuk air murni.....	31
Gambar 3.1.	Perkin elmer series 200 Ic .....	38
Gambar 3.2.	Oven .....	39
Gambar 3.3.	Skema peralatan ekstraksi superkritis .....	42
Gambar 3.4.	Skema proses ekstraksi secara <i>hydrothermal</i> .....	45
Gambar 4.1.	Kromatografi FTIR starting material dan residu <i>Eucheuma cottonii</i> .....	51
Gambar 4.2.	Kromatografi FTIR starting material dan residu <i>Gracilaria sp</i> .....	52
Gambar 4.3.	Pengaruh Suhu Terhadap Yield Karagenan <i>E. cottonii</i> Tekanan 7 Mpa.....	53
Gambar 4.4.	Pengaruh Suhu Terhadap Yield Karagenan <i>Gracilaria sp</i> Tekanan 7 Mpa.....	53
Gambar 4.5.	Pengaruh Tekanan Terhadap Yield Karagenan <i>E.cottonii</i> Suhu 140°C.....	55
Gambar 4.6.	Pengaruh Tekanan Terhadap Yield Karagenan <i>Gracilaria sp</i> Suhu 140°C.....	55
Gambar 4.7.	Spektrum FTIR Standar Karagenan (Rando Tuvikene,2005) .....	59
Gambar 4.8.	Spektrum FTIR Karagenan <i>E.Cottonii</i> berbagai suhu dan tekanan 3 Mpa.....	60

Gambar 4.9. Spektrum FTIR Karagenan <i>Gracilaria sp</i> berbagai suhu dan tekanan 3 Mpa .....	60
Gambar 4.10. Spektrum FTIR Karagenan <i>E.cottonii</i> berbagai tekanan dan suhu 140°C .....	61
Gambar 4.11. Spektrum FTIR Karagenan <i>Gracilaria sp</i> berbagai tekanan dan suhu 140°C .....	61
Gambar 4.12. Analisa pengaruh suhu operasi terhadap kandungan TPC <i>E.cottonii</i> pada tekanan 5 Mpa .....	63
Gambar 4.13. Analisa pengaruh suhu operasi terhadap kandungan TPC <i>Gracilaria sp</i> pada tekanan 5 Mpa .....	63
Gambar 4.14. Analisa Pengaruh Tekanan Operasi terhadap Kandungan Total Phenolic Compound <i>Eucheuma cottonii</i> pada Suhu 140°C .....	65
Gambar 4.15. Analisa Pengaruh Tekanan Operasi terhadap Kandungan Total Phenolic Compound <i>Eucheuma cottonii</i> pada Suhu 140°C .....	65
Gambar 4.16. Struktur Molekul DPPH .....	69
Gambar 4.17. Reaksi DPPH dengan Antioksidan .....	69
Gambar 4.18. Larutan DPPH sebelum dan sesudah ditambahkan ekstrak .....	70
Gambar 4.19. Grafik penurunan % DPPH analisa antioksidan alga <i>E. cottonii</i> suhu 140°C .....	71

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel 2.1</b> Hasil uji laboratorium kandungan nutrisi <i>Eucheuma cottoni</i> kering.....	10
<b>Tabel 2.2</b> Komposisi kimia <i>Gracilaria sp</i> kering .....	14
<b>Tabel 2.3</b> Potensi bioaktivitas beberapa jenis karotenoid.....	18
<b>Tabel 2.4</b> Kandungan asam lemak dalam rumput laut.....	20
<b>Tabel 2.5</b> Properti fisika gas, liquid dan fluida superkritis.....	24
<b>Tabel 2.6</b> Kondisi kritis dari beberapa pelarut.....	24
<b>Tabel 2.7</b> Unit – unit karaginan .....	28
<b>Tabel 4.1</b> Pengaruh kondisi operasi terhadap yield karaginan .	56
<b>Tabel 4.2</b> Pengaruh kondisi operasi terhadap kandungan TPC	66
<b>Tabel 4.3</b> Hasil analisa efisiensi antioksidan.....	72

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **I.1. Latar Belakang**

Rumput laut banyak dikembangkan di pesisir pantai Indonesia, mengingat panjangnya garis pantai Indonesia (81.000 km), maka peluang budidaya rumput laut sangat menjanjikan. Jika menilik permintaan pasar dunia ke Indonesia yang setiap tahunnya mencapai rata-rata 21,8 % dari kebutuhan dunia, sekarang ini pemenuhan untuk memasok permintaan tersebut masih sangat kurang, yaitu hanya berkisar 13,1 %. Rendahnya produksi rumput laut Indonesia disebabkan karena kegiatan budidaya yang masih kurang optimal. ( Aminatul et al , 2013)

Rumput laut (sea weeds) atau yang biasa juga disebut ganggang (algae) merupakan tumbuhan berklorofil dimana seluruh bagian tanaman dapat menyerupai akar, batang, daun, atau buah semuanya disebut talus.(Hudha et al, 2012)

Rumput laut merupakan salah satu sumber devisa negara dan sumber pendapatan bagi masyarakat pesisir. Selain dapat digunakan sebagai bahan makanan, minuman dan obat-obatan, beberapa hasil olahan rumput laut seperti agar-agar, alginat dan karagenan merupakan senyawa yang cukup penting dalam industri. Sebagian besar rumput laut di Indonesia diekspor dalam bentuk kering. Bila ditinjau dari segi ekonomi, harga hasil olahan rumput laut seperti karagenan jauh lebih tinggi dari pada rumput laut kering. Oleh karena itu, untuk meningkatkan nilai tambah dari rumput laut dan mengurangi impor akan hasil-hasil olahannya, maka pengolahan rumput laut menjadi karagenan di dalam negeri perlu dikembangkan. (Andarini et al,2011)

Ganggang merah (Rhodophyceae) seperti *Eucheuma* sp. dikelompokkan sebagai rumput laut penghasil karagenin karena memiliki kadar karagenin yang relatif tinggi, sekitar 62- 68 % dari berat keringnya. ( Aminatul et al , 2013)

Karagenin merupakan getah rumput laut yang diekstraksi dengan air atau larutan alkali dari spesies tertentu dari kelas



Rhodophyceae (alga merah). Karaginan berfungsi untuk pengental, pengemulsi, pensuspensi, dan faktor penstabil. Karaginan juga dipakai dalam industri pangan untuk memperbaiki penampilan produk kopi, bir, sosis, salad, es krim, susu kental, coklat, jeli. Industri farmasi memakai karaginan untuk pembuatan obat, sirup, tablet, pasta gigi, sampo dan sebagainya. Industri kosmetika menggunakannya sebagai gelling agent (pembentuk gel) atau binding agent (pengikat). Sedangkan industri non pangan seperti tekstil, kertas, cat air, transportasi minyak mentah, penyegar udara, pelapisan keramik, kertas printer atau mesin pencetak serta karpet dan sebagainya. Usaha peningkatan pemanfaatan rumput laut merah *Eucheuma cottonii* menjadi tepung karaginan perlu dilakukan agar dapat digunakan untuk berbagai proses industri yang selama ini hanya dijual kering tanpa pengolahan, yaitu sebatas pembuatan permen dan dodol. (Ia ega et al, 2016)

Salah satu jenis alga yang banyak dibudidayakan di perairan Indonesia adalah *Gracilaria* sp. yang merupakan penghasil agar. Namun, penggunaannya selama ini masih terbatas untuk pemanfaatan produk makanan dan obat. Belum ada upaya pengembangan lebih lanjut pada produk lain yang punya nilai ekonomis lebih tinggi. ( Amin et al, 2011 ) Rumput laut *Gracilaria* sp. termasuk jenis alga merah yang memiliki tingkat reproduksi cepat yaitu sekitar 7-13% dan dapat bertambah sampai 20% tingkat pertumbuhannya dalam sehari. *Gracilaria* sp. memiliki kandungan galaktan sebanyak 54,4% dan selulosa sebanyak 19,7%. (Saniha, 2015)

*Eucheuma cottonii* dan *Glaciralia Sp* juga mengandung  $\beta$ -karoten dan lipid.  $\beta$ -karoten berfungsi sebagai pencegah penyakit jantung dan kanker serta memperkuat sistem kekebalan tubuh. Untuk mengekstraksi senyawa-senyawa fitokimia biasanya diekstrak dengan menggunakan *steam distillation* untuk mengekstraksi senyawa seperti zat besi, vitamin karoten, asam nikotinat dan vitamin C (Aziz et al., 2014). Namun kebanyakan bahan-bahan tersebut di ekstrak dengan menggunakan pelarut

organik yang berbahaya bagi tubuh manusia seperti benzene, kloroform, dan hexane. Atas dasar itulah, maka dilakukan penelitian mengenai “Ekstraksi senyawa fitokimia dari alga *Eucheuma cottoni* dan *Gracilaria sp* menggunakan CO<sub>2</sub> superkritis dan air subkritis sebagai pelarut ”.

## **I.2. Perumusan Masalah**

Selama ini proses ekstraksi menggunakan *organic solvent* yang berbahaya bagi tubuh manusia dan *steam distillation* menggunakan suhu tinggi yang dapat merusak kandungan fitokimia dalam alga. Pada penelitian ini memberikan alternatif proses ekstraksi dengan menggunakan CO<sub>2</sub> superkritis yang dilanjutkan dengan ekstraksi menggunakan Air subkritis untuk mendapatkan hasil yang lebih optimal dan ramah lingkungan.

## **I.3. Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah:

1. Mengekstrak senyawa fitokimia ( $\beta$ -karoten, Asam Linoleat, Karagenan, dan Senyawa Fenol) dari alga *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp*.
2. Menentukan kadar beta karoten, asam linoleat, total fenol dan *yield* karagenan dari alga *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp*.
3. Mengetahui pengaruh kondisi operasi ekstraksi hidrotermal terhadap *yield* ekstrak dan senyawa fitokimia.

## **I.4. Manfaat Penelitian**

Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai pengaruh kondisi operasi ekstraksi terhadap kandungan fitokimia ( $\beta$ -karoten, Asam Linoleat, Karagenan, dan Total Fenol)
2. Hasil ekstrak ( $\beta$ -karoten, Asam Linoleat, Karagenan, dan Total Fenol) bermanfaat dalam industri makanan, farmasi

- dan kosmetik.
3. Memberikan informasi mengenai alternatif proses ekstraksi fitokimia dari *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp* dengan metode ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritis dan air subkritis dalam upaya mendapatkan ekstrak yang maksimal.
  4. Sebagai bahan referensi dan informasi bagi penulis selanjutnya yang tertarik untuk mengkaji dan meneliti tentang ekstraksi dengan CO<sub>2</sub> superkritis dan air subkritis.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Rumput Laut**

Wilayah Indonesia terdiri dari kurang lebih 70 % lautan yang kaya akan berbagai jenis sumber hayati. Salah satu diantaranya adalah rumput laut yang mempunyai nilai penting bagi masyarakat Indonesia. Rumput laut adalah tumbuhan tingkat rendah yang tidak dapat dibedakan antara bagian akar, batang, dan daun. Semua bagian tumbuhannya disebut thallus. (Hernanto et al, 2015) Terdapat beberapa kelompok rumput laut yang telah dikenal dalam dunia perdagangan dan telah dimanfaatkan sebagai bahan baku industri farmasi, kosmetik, bahan campuran berbagai industri makanan serta beberapa jenis bahan yang berkhasiat sebagai obat. Beberapa macam rumput laut yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut coklat (*Phaeophyta*), dan rumput laut merah (*Rhodophyta*). Rumput laut dari kelas alga merah (Rhodophyceae) menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis yang tumbuh di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis, setelah itu alga hijau (Chlorophyceae) sekitar 196 jenis dan alga coklat (Phaeophyceae) sekitar 134. (Suparmi et al, 2009) Rumput laut tumbuh di alam dengan melekatkan dirinya pada karang, lumpur, pasir, batu, dan benda keras lainnya. Selain benda mati, rumput laut pun dapat melekat pada tumbuhan lain secara epifitik. (Anggadireja, 2009). Secara umum, rumput laut dijumpai tumbuh di daerah perairan yang dangkal dengan kondisi dasar perairan berpasir, sedikit lumpur, atau campuran keduanya. Rumput laut jenis *Eucheuma cottoni* hanya mungkin hidup pada lapisan fotik, yaitu kedalaman sejauh sinar matahari masih mampu mencapainya. (Anggadireja, 2009).

#### **II.2 Kandungan Rumput Laut**

Rumput laut memiliki beberapa kandungan nutrisi antara lain, protein, asam amino, abu, mineral, vitamin A, vitamin C dan lemak. Rumput laut coklat mengandung kadar protein sebesar 3-

9% dari berat basah sedangkan rumput laut merah dan hijau mengandung protein sebesar 6-20% dari berat basah. Sementara protein tersusun dari asam amino, rumput laut mengandung asam glutamat, asam aspartat, glisin, leusin, alanin, valin, serin, iso leusin, treonin, fenilalanin, prolin, lisin, arginin, tirosin, sistein, histidin, dan hidroksi lisin. Rumput laut juga mengandung kalsium sekitar 4-7% berat kering (Handayani et al., 2004). Rumput laut juga mengandung  $\beta$ -karoten sebesar 489,55  $\mu\text{g RE}/100\text{gr}$  berat kering.

Rumput laut juga mengandung vitamin C sebesar 49,01 mg/100 gr berat basah. Keberadaan vitamin C sangat penting karena berbagai alasan antara lain, memperkuat sistem kekebalan tubuh, mengaktifasi absorpsi besi dalam pencernaan, mengontrol pembentukan jaringan penyambung dan protidic matrix dalam jaringan tulang, dan juga berperan dalam menangkap radikal bebas dan regenerasi vitamin E.

Rumput laut menyerap elemen mineral, makro elemen dan trace element (mikro elemen) yang berasal dari laut, kandungannya begitu melimpah. Fraksi mineral atas sebagian rumput laut berkisar 36% dalam rumput laut kering. Meski memiliki kandungan yang tinggi, kekuatan ikatan antara mineral dan polisakarida anionik (alginat, agar atau carrageenan) mungkin akan menghambat absorpsinya.

Rumput laut mengandung sangat sedikit lemak. Rumput laut dan tumbuhan pada umumnya menyimpan cadangan makanannya dalam bentuk karbohidrat terutama polisakarida. Lemak merupakan ester asam lemak dan gliserol, sehingga apabila lemak dipecah secara sempurna akan dihasilkan gliserol dan asam-asam lemak. Asam-asam lemak ini yang menentukan kualitas dari lemak itu sendiri, sehingga pengukuran jenis dan kadar asam lemak sangat penting untuk menentukan kualitas lemak. Dalam rumput laut, 7 asam lemak berhasil diidentifikasi. Asam lemak yang terdapat pada lemak rumput laut ini berdasarkan konsentrasi asam lemak yang terbanyak secara berurutan adalah asam linoleat, asam palmitat, asam oleat, asam

linolenat, asam palmitoleat, asam miristat dan asam laurat (Handayani et al., 2004).

### **II.3. Rumput laut Merah (Rhodophyta)**

Rumput laut merah dikenal sebagai penghasil karaginan dan agar. Karakteristik thalli mengandung pigmen fikobilin dari fikoritrin yang berwarna merah dan bersifat kromatik. Proforsi pigmen dapat menimbulkan bermacam-macam warna thalli seperti warna coklat, violet, merah tua, merah muda, dan hijau. Dinding sel terdapat selulosa, agar, karaginan, profiran dan furselaran. Persediaan makanan dalam thalli berupa kanji (florian starch). Rumput laut merah mempunyai kandungan koloid utama adalah karaginan dan agar. Karaginan diekstrak dari marga *Eucheuma*, *Gigartina*, *Rhodimonia*, dan *Hypnea*. Koloid agar diekstrak dari *Gracilaria*, *Gelidium*, *Gelidiopsis*, dan *Gelidiella*. Di dunia perdagangan rumput laut merah ada dua kelompok yakni karagenofit dan agarofit. Karaginan lebih dikenal sebagai asam karagenik. Koloid karaginan dalam bentuk derivat garam dinamakan karaginan terdiri dari potassium karaginant dan calcium karaginant. Rumput laut merah penghasil agar sering disebut sebagai asam sulfirik atau asam agarinik. Bentuk derivat garam berupa kalsium agarinat, magnesium agarinat, potassium agarinat dan sodium agarinat. (Achmad Kadi, 2004). Berikut penjelasan mengenai kelompok rumput laut merah :

- 1. Kelompok agarofit** yakni rumput laut merah penghasil koloid agar dan asam agarinik, diperoleh dari marga utama *Gracilaria*, *Ahnefeltis*, *Acanthopeltis*, *Gelidium*, *Gelidiopsis*, dan *Gelidiella*. Di dunia industry kelompok ini dimanfaatkan sebagai bahan makanan. Di bidang kedokteran “Agar” atau sering disebut “Agar Rose” jenis ini digunakan untuk media biakan bakteri. Di sektor pertanian digunakan sebagai media tumbuh jaringan tanaman (tissue-culture), sedangkan di bidang kesehatan sebagai obat anti desentri/diare dan anti gondok.

**2. Kelompok karagenofit** yakni rumput laut merah penghasil koloid karaginan, asam karagenik dan gram karagenat. Koloid karaginan mempunyai fraksi iota dan kappa. Fraksi iota kandungan koloid karaginan larut dalam air dingin, dapat diperoleh dari jenis *Eucheuma spinosum*, *Eucheuma isiforme* dan *Eucheuma uncinatum*. Fraksi kappa kandungan koloid karaginan larut dalam air panas, dapat diperoleh dari jenis *Eucheuma cottonii*, *Eucheuma edule*, dan *Acanthophora*. Karaginan dari kelompok ini dimanfaatkan dalam industri makanan. Karaginan dapat dimanfaatkan seperti align, sebagai bahan kosmetik, farmasi, pasta gigi dan salep. Khasiat lain dari marga *Acanthophora* dapat digunakan sebagai obat alami anti mikroba dan anti kesuburan (Wahidulla dkk, 1986 dalam A. Kadi).

## **II.4. *Eucheuma cottonii***

### **II.4.1 Klasifikasi**

*Eucheuma cottonii* merupakan salah satu jenis rumput laut merah (*Rhodophyceae*) dan berubah nama menjadi *Kappaphycus alvarezii* karena karaginan yang dihasilkan termasuk fraksi *kappa-karaginan*. Maka jenis ini secara taksonomi disebut *Kappaphycus alvarezii*. Klasifikasi *Eucheuma cottonii* menurut Rachmat (1999)

Divisi : *Rhodophyta*  
Kelas : *Rhodophyceae*  
Ordo : *Gigartinales*  
Famili : *Solieraceae*  
Genus : *Eucheuma*  
Spesies : *Eucheuma sp.*

### **II.4.2 Morfologi**

Ciri fisik *Eucheuma cottonii* adalah mempunyai tallus silindris, permukaan licin, cartilogeneus. Keadaan warna tidak selalu tetap, kadang-kadang berwarna hijau, hijau

kuning, abu-abu atau merah. Perubahan warna sering terjadi hanya karena faktor lingkungan. Kejadian ini merupakan suatu proses adaptasi kromatik yaitu penyesuaian antara proporsi pigmen dengan berbagai kualitas pencahayaan (Aslan, 1991). Penampakan thalli bervariasi mulai dari bentuk sederhana sampai kompleks. Duri-duri pada thallus runcing memanjang, agak jarang-jarang dan tidak bersusun melingkari thallus. Percabangan ke berbagai arah dengan batang-batang utama keluar saling berdekatan ke daerah basal (pangkal). Tumbuh melekat ke substrat dengan alat perekat berupa cakram. Cabang pertama dan kedua tumbuh dengan membentuk rumpun yang rimbun dengan ciri khusus mengarah ke arah datangnya sinar matahari (Atmadja, 1996).

Umumnya *Eucheuma cottonii* tumbuh dengan baik di daerah pantai terumbu (*reef*). Habitat khasnya adalah daerah yang memperoleh aliran air laut yang tetap, variasi suhu harian yang kecil dan substrat batu karang mati (Aslan, 1991). Beberapa jenis *Eucheuma* mempunyai peranan penting dalam dunia perdagangan internasional sebagai penghasil ekstrak karaginan. Dimana *Eucheuma cottonii* merupakan salah satu jenis algae merah menghasilkan karaginan yang banyak dimanfaatkan dalam bidang industri kimia. (Soenardjo, 2011) Kadar karaginan dalam setiap spesies *Eucheuma* berkisar antara 54 – 73 % tergantung pada jenis dan lokasi tempat tumbuhnya. (Peranganing et al, 2011)





**Gambar 2.1** *Eucheuma cottonii*

### II.4.3 Kandungan *Eucheuma cottonii*

*Eucheuma cottonii* banyak mengandung zat-zat nutrisi penting yang diperlukan bagi tubuh manusia, seperti protein, karbohidrat, energi dan serat kasar. Kandungan lemaknya yang rendah dan serat kasarnya yang cukup tinggi menyebabkan rumput laut jenis ini baik untuk dikonsumsi sehari-hari. Kandungan dari karotenoid dalam alga ini sebesar 1989 micro gr/100 gr alga (Julyasih et al. ,2009)

**Tabel 2.1** Hasil uji laboratorium kandungan nutrisi *Eucheuma cottonii* kering

No	Parameter	Satuan	Hasil Uji			Metode Uji
			Asin	Tawar	Alkali	
1.	Air	%	26,77	18,62	21,75	SNI. 01-2891-1992 Butir 5.1

2.	Abu	%	34,38	15,13	15,77	SNI. 01-2891-1992 Butir 6.1
3.	Lemak	%	0,51	0,58	0,55	SNI. 01-2891-1992 Butir 8.2
4.	Protein	%	1,87	2,09	1,71	Kjeldahl
5.	Serat Kasar	%	0,90	5,29	19,64	SNI. 01-2891-1992 Butir 11
6.	Karbohidrat	%	35,57	58,29	40,58	Perhitungan
7.	Energi	kkal/100 gr	154,4	246,7	174,1	Perhitungan
8.	Karaginan	%	23,68	20,97	18,23	Perhitungan

(Wisnu & Rachmawati, 2007)

Beberapa jenis *Eucheuma* sp mempunyai peranan penting dalam dunia perdagangan internasional sebagai penghasil ekstrak karaginan. Kadar karaginan dalam setiap spesies *Eucheuma* sp berkisar antara 54 – 73% tergantung pada jenis dan lokasi tempat tumbuhnya. Karaginan merupakan getah rumput laut yang diperoleh dari hasil ekstraksi rumput laut merah dengan menggunakan air panas (hot water) atau larutan alkali pada temperature tinggi (Glicksman, 1983). *Eucheuma cottonii* sebagai penghasil karaginan mempunyai kandungan serat yang tinggi. Kadar serat makanan dari rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* mencapai 67,5% yang terdiri dari 39,47%

serat makanan yang tak larut air dan 26,03% serat makanan yang larut air sehingga karaginan berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan makanan yang menyehatkan. Hal ini didasarkan pada banyak penelitian bahwa makanan berserat tinggi mampu menurunkan kolesterol darah dan gula darah (Kasim, 2004).

## **II.5 *Gracilaria* sp**

### **II.5.1 Klasifikasi**

Rumput laut *Gracilaria* sp merupakan salah satu jenis alga merah yang banyak mengandung gel, dimana gel ini memiliki kemampuan mengikat air yang cukup tinggi. Jenis rumput laut ini mempunyai nilai ekonimis tinggi dan termasuk golongan agarophyte. Klasifikasi *Gracilaria* sp sebagai berikut:

Kelas : *Rhodophyceae*

Ordo : *Gigartinales*

Famili : *Gracilariaceae*

Genus : *Gracilaria*

### **II.5.2 Morfologi**

Ciri umum *Gracilaria* sp. Ini adalah mempunyai bentuk *thallus* silindris atau gepeng dengan percabangan mulai dari yang sederhana sampai pada yang rumit dan rimbun, di atas percabangan umumnya bentuk thalli (kerangka tubuh tanaman) agak mengecil, permukaannya halus atau berbintil-bintil, diameter thallus berkisar antara 0,5-2 mm. Panjang dapat mencapai 30 cm atau lebih (Anggadiredja et al., 2006). Ciri-ciri khusus dari *Gracilaria* adalah thalus berbentuk silindris dan permukaannya licin. Thalus tersusun oleh jaringan yang kuat, bercabang-cabang dengan panjang kurang lebih 250 mm, garis tengah cabang antara 0,5-2,0 mm. Percabangan alternate yaitu posisi tegak percabangan berbeda tingginya, bersebelahan atau pada jarak tertentu berbeda satu dengan yang lain, kadangkadang hampir dichotomous dengan pertulangan lateral yang memanjang menyerupai rumput. Bentuk cabang silindris dan meruncing di ujung cabang (Rachmat, 1999). *Gracilaria* sp. Memiliki warna

hijau kemerahan. Warna rumput laut ini disebabkan oleh klorofil, karoten, dan biliprotein (Kadi & Atmaja, 1988). Klorofil yang terdapat pada alga merah yaitu klorofil-a. Jumlah klorofil-a yang terdapat pada ganggang merah berkisar antara 0,3%-2,0%. (Uswatun, 2011)



**Gambar 2.2** *Gracilaria sp.*

### **II.5.3 Kandungan *Gracilaria sp.***

Rumput laut jenis *Gracilaria sp* menunjukkan kandungan protein, vitamin, dan mineral dalam jumlah yang signifikan yang sangat berguna bagi manusia. Komposisi nutrisi rumput laut sangat bervariasi dan dipengaruhi oleh spesies, area geografis, musim tahunan, dan temperature air (Jensen, 1993). Kandungan zat besi dalam rumput laut jenis *Gracilaria sp* cukup tinggi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Norziah di Penang Malaysia diketahui bahwa kadar zat besi dalam rumput laut *Gracilaria sp* sebesar 95.6 mg per 100 g berat kering. Alga merah seperti *Gracilaria sp* dilaporkan mengandung pigmen karotenoid yang penting dalam udang dan ikan (Norziah & Ching, 2000). Kandungan dari karotenoid 1776 micro gr/100 gr alga. (Julyasih et al., 2009). Rumput laut jenis *Gracilaria sp* dinyatakan memiliki sumber antioksidan seperti karatenoid, pigmen, polifenol, enzim, dan berbagai polisakarida dalam jumlah yang melimpah. Analisa fitokimia dari *Gracilaria sp* dinyatakan sebagai sumber yang kaya akan fitokimia khususnya flavonoid, terpena, steroid, tannin, alkaloid, fenol dan glikosida

sebagai aktivitas biologi termasuk antioxidant dan sitotoksik (Sreejamole &Greeshma, 2013).

Komponen utama alga adalah polisakarida yang dapat mencapai 40-70% berat kering tergantung pada jenis alga dan keadaan lingkungan tumbuhnya. Selain polisakarida, alga mengandung sejumlah protein, lemak, mineral, dan vitamin. Komposisi kimia rumput laut *Gracilaria sp.* dapat dilihat pada tabel II.2.

**Tabel 2.2** Komposisi kimia *Gracilaria sp.* Kering

<b>Parameter</b>	<b>Kandungan (per 100 g bahan)</b>
Karbohidrat	83,5 g
Lemak	1,2 g
Protein	1,3 g
Serat	2,7 g
Abu	4 g
Kalsium (Ca)	756 mg
Besi (Fe)	7,8 mg
Fosfor (P)	19 mg
Natrium (Na)	115 mg
Kalium (K)	107 mg
Ribloflavin	0,22 mg
Niasin	0,20 mg
Thiamin	0,01 mg

(Uswatun,2011)

## **II.6 Fitokimia**

Fitokimia berasal dari kata *phytochemical*. *Phyto* berarti tumbuhan atau tanaman dan *chemical* sama dengan zat kimia, dengan demikian fitokimia berarti zat kimia yang terdapat pada tanaman. Senyawa fitokimia tidak termasuk kedalam zat gizi karena bukan berupa karbohidrat, protein, lemak, vitamin, mineral maupun air. Setiap tumbuhan atau tanaman mengandung sejenis zat yang disebut fitokimia, merupakan zat kimia alami yang terdapat di dalam tumbuhan dan dapat memberikan rasa, aroma atau warna pada tumbuhan itu. Sampai saat ini sudah

sekitar 30.000 jenis fitokimia yang ditemukan dan sekitar 10.000 terkandung dalam makanan.

Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay (Harborne, 1987). Fitokimia terdiri dari 3 jenis yaitu polar, semi polar dan non polar. Fitokimia yang bersifat polar antara lain alkaloid kuartener, komponen fenolik, karotenoid, tanin, gula, asam amino dan glikosida. Fitokimia semi polar antara lain senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Fitokimia non polar antara lain lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap (Harborne, 1987).

Beberapa studi pada manusia dan hewan membuktikan zat-zat kombinasi fitokimia ini di dalam tubuh manusia memiliki fungsi tertentu yang berguna bagi kesehatan. Kombinasi itu antara lain menghasilkan enzim-enzim sebagai penangkal racun (detoksifikasi), merangsang sistem pertahanan tubuh (imunitas), mencegah penggumpalan keping-keping darah (trombosit), menghambat sintesa kolesterol di hati, meningkatkan metabolisme hormon, mengatur gula darah serta dapat menimbulkan efek antikanker, meningkatkan pengenceran dan pengikatan zat karsinogen dalam liang usus, menimbulkan efek anti bakteri, antivirus dan antioksidan. Secara garis besar fitokimia diklasifikasikan menurut struktur kimianya sebagai berikut :

### **1. Fitokimia Alkaloid**

Sebagian besar alkaloid dengan mudah larut dalam alkohol dan meskipun alkaloid larut secara lambat di dalam air, garam alkaloid biasanya larut. Larutan dari alkaloid sangat pahit, Senyawa nitrogen dalam alkaloid menjaga tumbuhan melawan dari pemakan tumbuhan dan pathogen, secara luas dimanfaatkan dalam dunia farmasi, stimulant, obat bius, dan racun termasuk aktivitas biologi yang manjur. Di alam, alkaloid hidup dalam jumlah besar pada biji-bijian, akar tumbuhan, dan biasanya

dikombinasikan dengan asam yang terkandung dalam sayuran (James Hamuel, 2012).

## **2. Fitokimia Glikosida**

Pada umumnya glikosida didefinisikan sebagai produk kondensasi dari gula (termasuk polisakarida) dengan variasi berbeda dari senyawa hidroksida organik. Glikosida tidak berwarna, terdiri dari karbon kristal, hidrogen, dan mengandung oksigen terlarut, ditemukan dalam getah sel. Glikosida pada umumnya ditemukan pada tumbuhan Famili Genitiaceae dan meskipun glikosida secara kimia tidak berhubungan tetapi memiliki sifat umum rasa pahit (James Hamuel, 2012).

## **3. Fitokimia Flavonoid**

Flavonoid merupakan kelompok penting dari polifenol yang secara luas tersebar diantara tumbuh-tumbuhan. Flavonoid terbuat dari lebih dari satu cincin benzene dalam strukturnya dan banyak laporan yang mendukung kegunaan dari flavonoid sebagai antioksidan atau penetral radikal bebas (James Hamuel, 2012).

## **4. Fitokimia Polifenol**

Polifenol adalah senyawa kimia yang terdapat dimana-mana sebagai pigmen warna natural untuk warna buah dari tanaman. Polifenol dalam tumbuhan kebanyakan disintesa dari phenylalanine melalui aksi dari phenylalanine ammonia lyase (PAL). Polifenol sangat penting untuk tumbuhan dan memiliki banyak fungsi. Peranan paling penting dalam tumbuhan menjaga melawan pathogen dan pemangsa herbivora, sehingga diaplikasikan dalam pengendalian infeksi pathogen pada manusia (James Hamuel, 2012).

## **5. Fitokimia Saponin**

Istilah saponin berasal dari Saponaria vaccaria, sebuah tumbuhan yang berlimpah dalam saponin dan sesekali digunakan sebagai sabun. Oleh karena itu, saponin memiliki sifat “soaplike” dalam air, yaitu memproduksi buih. Proses hidrolisis memproduksi aglycone yang disebut sapogenin. Terdapat dua macam sapogenin : steroidal dan triterpenoidal. Saponin penting untuk terapi karena terbukti memiliki hipolipidemik dan aktivitas

antikanker. Saponin juga dibutuhkan untuk kegiatan glikosida jantung (James Hamuel, 2012).

#### **6. Fitokimia Tannin**

Tannin merupakan senyawa fenol dari berat molekul tinggi, larut dalam air dan alcohol, ditemukan dalam akar, kulit kayu, batang, dan lapisan luar dari jaringan tumbuhan. Tannin digunakan sebagai antiseptic dan aktivitas ini dikarenakan adanya grup fenol. Tanin kaya akan obat digunakan sebagai agen penyembuhan dalam sejumlah penyakit (James Hamuel, 2012).

#### **7. Fitokimia Terpenoid**

Terpenoid adalah kelompok paling banyak dan bermacam-macam produk alam. Terpenoid merupakan hidrokarbon tidak jenuh yang mudah terbakar, terdapat dalam bentuk liquid umumnya ditemukan pada minyak atsiri, resin, atau oleoresin (Firn, 2010). Terpenoid memiliki fungsi sebagai antimikroba dalam sistem pertahanan tumbuhan atau sebagai sinyal respon pertahanan tidak langsung terhadap pemangsa tumbuhan dan musuh alami tumbuhan. Terpenoid memiliki sifat obat seperti antikarsinogenik, antimalarial, antimikroba, dan diuretic (James Hamuel, 2012).

#### **8. Fitokimia Minyak**

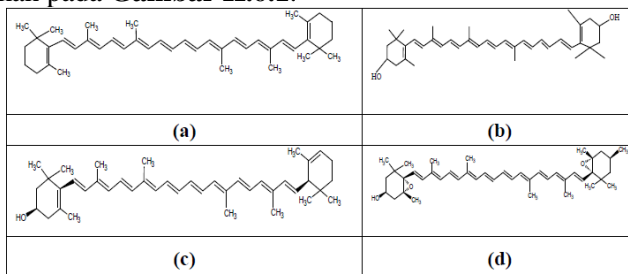
Esensial Minyak esensial memiliki bau yang harum dan mudah menguap dari berbagai tumbuhan dan spesies hewan. Minyak esensial mempunyai kecenderungan menguap pada paparan udara bahkan pada kondisi ambien. Minyak esensial dapat didapatkan dari berbagai sumber tanaman dengan steam distillation, ekstraksi atau hidrolisis enzim (James Hamuel, 2012).

### **II.7 Karotenoid**

Karotenoid merupakan salah satu senyawa antioksidan alami yang diisolasi tumbuhan. Karotenoid merupakan pigmen asesori yang berfungsi menangkap energi cahaya pada panjang gelombang yang tidak dapat ditangkap klorofil untuk ditransfer ke klorofil, kemudian digunakan dalam proses fotosintesis. Rumput laut coklat sangat potensial mengandung karotenoid



khususnya fucoxanthin,  $\beta$ -karoten, violaxanthin. Sedangkan karotenoid utama yang terdapat di dalam rumput laut merah adalah  $\beta$ -karoten,  $\alpha$ -karoten, zeaxanthin, dan lutein (Bronland,1976). Karotenoid yang terdapat dalam rumput laut hijau mirip dengan karotenoid yang terdapat pada tumbuhan daratan, yaitu  $\beta$ -karoten, lutein,violaxanthin, antheraxanthin, zeaxanthin, dan neoxanthin (Fitton, 2005). Struktur kimia beberapa jenis karotenod yang ditemukan pada rumput laut disajikan pada **Gambar II.6.1**.



**Gambar 2.3** Struktur kimia karotenoid pada alga merah *Gracilaria* sp.: (a)  $\beta$ -karoten;(b) zeaxanthin; (c) lutein; dan (d) violaxanthin (Gross, 1996).

Karotenoid dari rumput laut berpotensi memiliki bioaktivitas yang bermanfaat bagi manusia, sebagaimana disajikan pad antiobesitas (kegemukan).

**Tabel 2.3** Potensi Bioaktivitas Beberapa Jenis Pigmen Karotenoid dalam Bebarapa Bidang Aplikasi

Jenis Karotenoid	Bidang Aplikasi	Potensi Bioaktivitas
$\alpha$ - $\beta$ - $\gamma$ -karoten	Kesehatan	prekursor vitamin A, meningkatkan sistem kekebalan tubuh, antioksidan penurunan risiko penyakit penyempitan pembuluh darah, kanker, dan penyakit yang berhubungan dengan tekanan oksidatif

Astaxanthin dan zeaxanthin	Akuakultur, farmasi, dan industri makanan	Bahan pewarna alami
Fucoxanthin	Farmakologi	Obat dan suplemen, Antioksidan, antiobesitas (pelangsing), antidiabetes, menyehatkan jantung, menghambat pertumbuhan sel kanker usus, kanker prostat, dan menyebabkan kematian sel leukimia HL-60, anti-inflamatori.

## II.8 Lipid dan asam lemak

Lipid dan asam lemak merupakan nutrisi rumput laut dalam jumlah yang kecil. Kandungan lipid hanya berkisar 1-5% dari berat kering dan komposisi asam lemak omega 3 dan omega 6 (Burtin, 2003). Asam lemak omega 3 dan 6 berperan penting dalam mencegah berbagai penyakit seperti penyempitan pembuluh darah, penyakit tulang, dan diabetes. Asam alfa linoleat (omega 3) banyak terkandung dalam rumput laut hijau, sedangkan rumput laut merah dan coklat banyak mengandung asam lemak dengan 20 atom karbon seperti asam eikosapentanoat dan asam arakidonat (Burtin, 2003). Kedua asam lemak tersebut berperan dalam mencegah inflamatori (peradangan) dan penyempitan pembuluh darah. Hasil penelitian membuktikan bahwa ekstrak lipid beberapa rumput laut memiliki aktivitas antioksidan dan efek sinergisme terhadap tokoferol (senyawa antioksidan yang sudah banyak digunakan) (Anggadiredja *et al.*, 2006). Kandungan Asam lemak pada rumput laut dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

**Tabel 2.4** Kandungan Asam Lemak dalam Rumput Laut

Asam Lemak	Kadar (%)
Asam laurat (12:0)	1,45 ± 0,08
Asam miristat (14:0)	3,53 ± 0.11

Asam palmitat (16:0)	29,49 ± 1,48
Asam palmitoleat (16:1)	4,10 ± 0,24
Asam oleat (18:1)	13,78 ± 1,35
Asam linoleat (18:2)	33,58 ± 1,41
Asam linolenat (18:3)	5,94 ± 1,49

(Handayani *et al.*2004)

## II.9 Ekstraksi Pelarut

Untuk memisahkan satu atau lebih komponen dari dalam suatu campuran, campuran tersebut harus dikontakkan dengan fase lain. Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat atau beberapa dari suatu padatan atau cairan dengan bantuan pelarut. Pemisahan terjadi atas dasar kemampuan melarut atau solubilitas yang berbeda dari setiap komponen. Ekstraksi bisa dilakukan dengan berbagai macam metode yang sesuai dengan sifat dan tujuan ekstraksi. Pada proses ekstraksi ini dapat digunakan sampel dalam keadaan segar atau yang telah dikeringkan, tergantung pada sifat tumbuhan dan senyawa yang akan diisolasi. Untuk mengekstraksi senyawa utama yang terdapat dalam bahan tumbuhan dapat digunakan pelarut yang cocok.

### II.9.1 Ekstraksi Liquid - Liquid

Ekstraksi liquid – liquid adalah suatu proses untuk memisahkan komponen – komponen dalam suatu larutan berdasarkan distribusi komponen tersebut di antara dua fase liquid yang tidak saling melarut (*immiscible*) (Perry, 1997). Pemisahan zat - zat terlarut antara dua cairan yang tidak saling mencampur antara lain menggunakan alat corong pemisah. Pada ekstraksi liquid – liquid, dua fase tersebut sedikit berbeda secara sifat kimianya, yang menyebabkan terjadi proses pemisahan dari komponen – komponen berdasarkan properti fisik dan kimianya (Geankoplis, 2003).

Ekstraksi liquid – liquid kadang bisa digunakan sebagai alternatif proses pemisahan dari distillasi atau evaporasi. Sebagai contoh, asam asetat bisa dipisahkan dari air dengan distillasi atau dengan ekstraksi liquid – liquid menggunakan pelarut organik. Lalu larutan campuran antara pelarut organik dan asam asetat didistillasi. Contoh lainnya, asam lemak dapat dipisahkan dari minyak nabati dengan ekstraksi menggunakan propana cair (Geankoplis, 2003).

## **II.9.2 Ekstraksi Solid – Liquid**

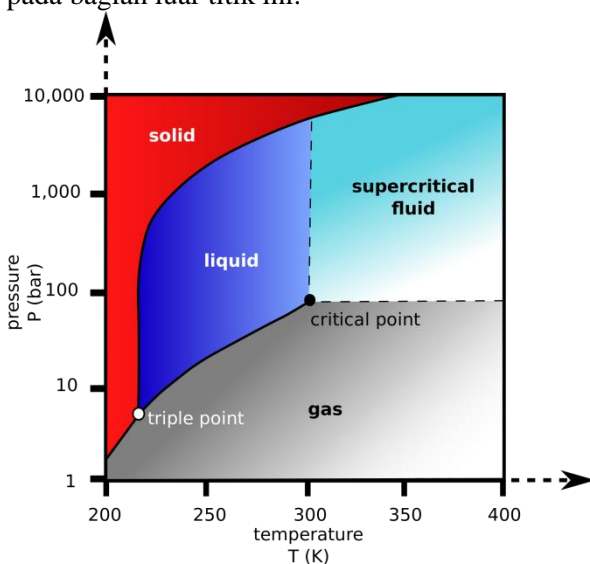
Ekstraksi solid – liquid atau biasa disebut *leaching*, adalah proses pemisahan yang digunakan untuk melarutkan komponen terlarut (*solute*) dari campurannya dengan solid/padatan tak larut (McCabe, 2005). Kebanyakan senyawa biologi, organik, dan anorganik terbentuk dalam campuran dari berbagai komponen dalam padatan. Untuk memisahkan *solute* (zat yang ingin diekstrak) yang diinginkan maupun *solute* yang tak diinginkan dari suatu solid, solid dikontakkan dengan fase liquid/cair. Kedua fase tersebut akan mengalami kontak dan *solute* dapat berdifusi dari solid menuju fase liquid sehingga *solute* yang tadinya berada dalam solid dapat dipisahkan (Geankoplis, 2003).

Mekanisme pada proses *leaching*, pertama, pelarut (*solvent*) ditransfer menuju permukaan solid, kemudian *solvent* berdifusi atau masuk ke dalam solid melalui pori – pori solid tersebut. Lalu *solute* yang ada dalam pori solid berdifusi dengan *solvent*. Kemudian *solute* yang sudah terlarut dalam *solvent* berdifusi menuju permukaan partikel solid dan bercampur dengan larutan keseluruhannya. Proses *leaching* juga biasa dikenal dengan ekstraksi soklet karena alat skala laboratorium yang umumnya digunakan untuk proses *leaching* adalah soklet yang dilengkapi dengan pendingin balik (kondensor) sehingga terjadi proses ekstraksi secara berkesinambungan/kontinyu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan (Rinawati, 2012).

## II.10 Ekstraksi Fluida Superkritis

Ekstraksi fluida superkritis adalah suatu proses ekstraksi menggunakan fluida superkritis sebagai pelarut. Teknologi ekstraksi ini memanfaatkan kekuatan pelarut dan sifat fisik dari komponen murni atau campuran pada temperatur dan tekanan kritisnya dalam kesetimbangan fase (Palmer & Ting, 1995). Prinsip metode ekstraksi fluida superkritis adalah proses pemisahan komponen di atas tekanan kritis dan temperatur kritis suatu fluida pelarut.

Temperatur kritis merupakan temperatur tertinggi dimana gas dapat berubah fase menjadi liquid dengan kenaikan tekanan. Sedangkan tekanan kritis merupakan tekanan tertinggi dimana liquid dapat berubah fase menjadi gas dengan kenaikan temperatur liquid. Gambar II.2 menunjukkan daerah superkritis dari karbondioksida ( $\text{CO}_2$ ). Titik kritis terletak pada akhir kurva penguapan, dimana fase liquid dan gas bergabung untuk membentuk fase fluida homogen tunggal dan daerah superkritis terletak pada bagian luar titik ini.



**Gambar 2.4** Gambar diagram fase  $\text{CO}_2$

Penggunaan ekstraksi dengan fluida superkritis merupakan metode yang menarik, mengingat proses ekstraksi konvensional (pelarut liquid dan distilasi uap) memerlukan temperatur yang relatif tinggi, sehingga dapat merusak bahan. Metode ekstraksi konvensional akan meninggalkan sisa yang tidak diinginkan pada produk dan sulit untuk dipisahkan. Sistem operasi pemisahan untuk produk obat – obatan dan makanan sering dibatasi oleh penggunaan temperatur yang tinggi karena produk biasanya tidak tahan panas. Selain itu pelarut yang digunakan harus memenuhi syarat tidak merusak, tidak beracun, dan tidak meninggalkan sisa yang dapat mengotori produk.

Ekstraksi fluida superkritis memiliki beberapa keuntungan, yaitu :

1. Meningkatkan hasil kelarutan dan memperbanyak *mass transfer*.
2. Kemudahan mengontrol *solubility*/kelarutan dengan mengatur tekanan dan temperatur.
3. Ekstraksi fluida superkritis mampu memisahkan lemak.
4. Pemisahan antara zat terlarut yang terekstrak dengan pelarutnya sangat mudah, sehingga pelarut dapat dengan mudah di-*recycle*.
5. Daya larut solvent tinggi karena bersifat seperti liquid.
6. Viskositas solvent rendah karena bersifat seperti gas, sehingga koefisien perpindahan massanya tinggi.
7. Pemisahan kembali solvent dari ekstrak cukup cepat dan sempurna karena pada keadaan normal solvent tersebut berupa gas, sehingga dengan penurunan tekanan, solvent secara otomatis akan terpisah keluar sebagai gas.

## **II.11 Fluida Superkritis**

Kondisi fluida superkritis terbentuk apabila kondisi fluida berada diatas temperatur dan tekanan kritisnya. Tidak seperti gas, fluida superkritis tidak dapat dikondensasikan menjadi keadaan liquid-gas dengan pengaturan tekanan. hal ini dapat digunakan untuk mengontrol solubilitas dari pelarut. Fluida superkritis dikarakterisasikan dengan densitas tinggi, viskositas rendah, dan

difusivitas menengah antara gas dan cairan). Properti yang tidak biasa ini, justru menjadikan fluida superkritis sebagai pelarut yang ideal dan potensial. Berikut ini merupakan keuntungan dari fluida superkritis:

- Koefisien difusi tinggi dan viskositas rendah dibandingkan dengan liquid
- Recovery solven cepat dengan minimal residu dalam produk
- Tidak beracun
- Tidak menghasilkan kebakaran
- Secara komersial mudah di dapat dalam kemurnian tinggi
- Kompatibel dengan kondisi lingkungan karena tidak menghasilkan limbah

**Tabel 2.5** Properti Fisika dari Gas Liquid, dan Fluida Superkritis

<b>Physical State</b>	<b>Density (gr/ml)</b>	<b>Viscosity (g/cm.s)</b>	<b>Diffusivity (cm<sup>2</sup>/s)</b>
Gas	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-1</sup>
Liquid	1	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-6</sup>
Fluida Superkritis	0.2-0.9	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-3</sup>

Sumber:Dvoyashkin

**Tabel 2.6** Kondisi Kritis dari Beberapa Pelarut

<b>Compounds</b>	<b>Tc (°C)</b>	<b>Pc (atm)</b>	<b>Density (g/ml)</b>
CO <sub>2</sub>	31.3	72.9	0.448
Ammonia	132.4	112.5	0.235
Water	374.15	218.3	0.315
Nitrous Oxide	36.5	71.7	0.45
Methane	-82.1	45.8	0.2
Ethane	32.28	48.1	0.203
Ethylene	9.21	49.7	0.218
Methanol	240.5	78.9	0.272

Sumber:Dvoyashkin

### **II.11.1 Solubilitas (Kelarutan)**

Solubilitas gas dalam suatu solvent biasanya menurun dengan kenaikan temperatur. Namun pada temperatur tinggi, mendekati temperatur kritis dari solvent solubilitas dari gas umumnya naik sebanding dengan temperatur (Arie & Ibrahim, 2014). Umumnya solubilitas dinyatakan dalam satuan fraksi mol atau konstanta Henry.

Kelarutan solute dalam solvent dipengaruhi oleh dua hal yaitu jarak antara molekul yang memungkinkan terjadinya interaksi antara molekul tersebut dan gaya intermolekul antara solvent-solvent, solute-solvent, dan solute-solute.

### **II.11.2 Viskositas dan Difusifitas**

Pada keadaan superkritis, gaya interaksi antar molekul relatif rendah. Hal ini menyebabkan tingginya mobilitas dari molekul dan menyebabkan viskositas dari superkritis menjadi rendah bila dibandingkan dengan solvent liquid. Pada temperatur dibawah minimum, fluida superkritis berkelakuan seperti liquid yaitu viskositas menurun seiring dengan kenaikan temperatur. Pada temperatur diatas minimum, fluida superkritis berkelakuan seperti gas yaitu viskositas meningkat seiring dengan kenaikan temperatur (Grandison & Lewis, 1996).

Seperti halnya densitas, nilai viskositas dan difusivitas tergantung pada temperatur dan tekanan. Viskositas dan difusivitas dari fluida superkritis mendekati gas selama tekanan dinaikkan. Kenaikan temperatur berpengaruh pada kenaikan viskositas gas, namun pada fluida superkritis hal ini menjadi kebalikan. Difusivitas akan meningkatkan seiring dengan kenaikan temperatur. Rendahnya viskositas dan tingginya difusivitas akan memudahkan pelarut untuk melakukan penetrasi ke bahan yang akan diekstrak (Taylor, 1996).



### II.11.3 Densitas

Kemampuan pelarut untuk melarutkan zat terlarut dinyatakan dengan jumlah pelarut per satuan volume. Ini disebabkan karena energi pelarutan ditentukan oleh jumlah interaksi pelarut dengan solute yang terjadi dimana densitas merupakan kunci parameter yang ditentukan oleh pengaruh tekanan dan temperatur pada ekstraktor. Fluida superkritis memiliki densitas yang hampir sebanding dengan cairan. Dengan densitas yang tinggi, maka banyak molekul yang dapat melarutkan solut. Sehingga kemampuan melarutkan menjadi lebih besar (Taylor, 1996).

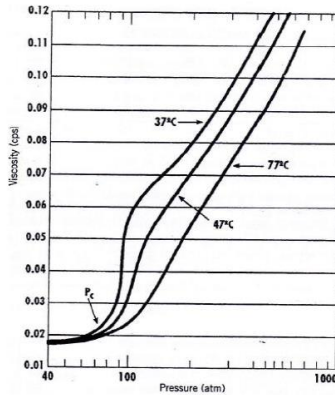
### II.12 Karbondioksida Superkritis

Banyak likuida dikembangkan sebagai pelarut superkritis dengan pemanasan dan menaikkan tekanan. CO<sub>2</sub> biasanya sering digunakan sebagai pelarut untuk proses ekstraksi fluida superkritis. Ini dikarenakan temperatur kritis CO<sub>2</sub> yang rendah sehingga memungkinkan proses eksperimen mendekati temperatur lingkungan (dapat dilihat dari tabel II.6). *Supercritical* CO<sub>2</sub>, merupakan CO<sub>2</sub> pada temperatur dan tekanan di atas titik kritis. Dimana nilai tekanan kritis CO<sub>2</sub> (Pc) adalah 7,38 MPa dan temperatur kritis (Tc) adalah 31.1 °C (Kirk & Othmer, 1991). Kondisi tersebut relatif mudah dicapai karena tidak terlalu banyak energi yang dibutuhkan.

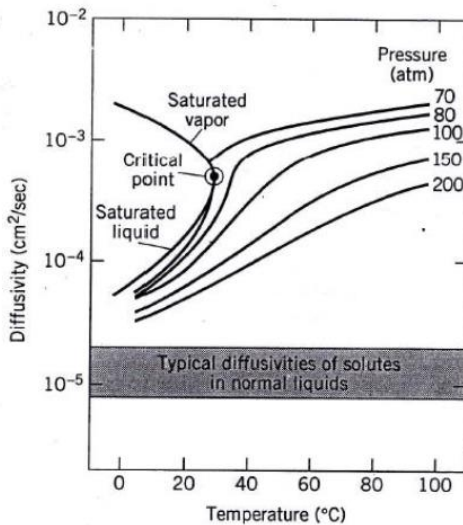
Beberapa kelebihan yang dimiliki CO<sub>2</sub> antara lain sebagai berikut :

- Ideal solvent untuk ekstraksi material yang memiliki suhu labil.
- Secara komersial tersedia dengan kemurnian tinggi.
- Tidak mengandung residu yang berbahaya, tidak berbau, tidak berasa, inert, dan tidak beracun.
- Pemisahan CO<sub>2</sub> dari ekstrak dapat dilakukan dengan mudah dan sempurna.
- Temperatur proses yang rendah
- Selektivitas tinggi.

- Relatif murah, tidak mengubah sifat solute, tidak mudah terbakar, tidak korosif, tidak berwarna, dan tidak berbau. (Grandinson, 1996)



**Gambar 2.5** Viskositas CO<sub>2</sub> pada Beberapa Temperatur dan Tekanan



**Gambar 2.5** Diffusivitas pada Beberapa Temperatur dan Tekanan

### II.13. Karaginan

Karaginan merupakan senyawa hidrokoloid yang terdiri dari ester kalium, natrium, magnesium dan kalsium sulfat. Karaginan merupakan molekul besar yang terdiri dari lebih 1.000 residu galaktosa. Oleh karena itu, variasinya banyak sekali. Karaginan dibagi atas tiga kelompok utama yaitu : kappa, iota, dan lambda karaginan yang memiliki struktur yang jelas. Karaginan dapat diperoleh dari alga merah, salah satu jenisnya adalah dari kelompok *Euchema sp* (Yasita dan Rachmawati, 2010).

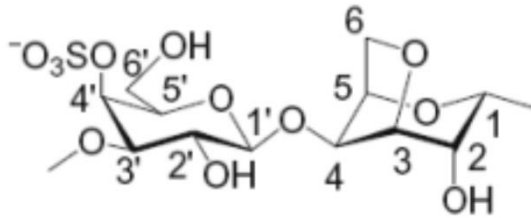
Karaginan merupakan senyawa hidrokoloid yang terdiri atas ester kalium, natrium, magnesium dan kalium sulfat dengan galaktosa 3,6-anhidro-galaktosa kopolimer. Karaginan adalah suatu bentuk polisakarida linear dengan berat molekul di atas 100 kDa. Karaginan tersusun dari perulangan unit-unit galaktosa dan 3,6-anhidro-galaktosa (3,6-AG). Keduanya baik yang berikatan dengan sulfat atau tidak, dihubungkan dengan ikatan  $\alpha$ -1,3 dan  $\beta$ 1,4-glycosidic (Vipul D, 2014). Stanley (1987) mengklasifikasikan karaginan berdasarkan jumlah dan posisi dari sulfatnya (SO<sub>3</sub><sup>-</sup>) menjadi beberapa jenis yaitu,  $\lambda$  (lambda),  $\kappa$  (kappa),  $\iota$  (iota),  $\nu$  (nu),  $\mu$  (mu),  $\theta$  (theta) and  $\xi$  (Ksi), semuanya mengandung sekitar 22-35%. Greer dan Yaphe (1984) mengklasifikasikan karaginan berdasarkan famili menjadi 3 macam yaitu,  $\lambda$  (lambda),  $\iota$  (iota),  $\kappa$  (kappa).

Karaginan mempunyai sifat pembentuk gel. Tipe karaginan yang paling banyak dalam aplikasi pangan adalah kappa karaginan. Kemampuan membentuk gel adalah sifat terpenting dari kappa karaginan. Kemampuan pembentukan gel pada kappa karaginan terjadi pada saat larutan panas yang dibiarkan menjadi dingin karena memiliki gugus sulfat yang paling sedikit dan mudah untuk membentuk gel (Doty, 1987)

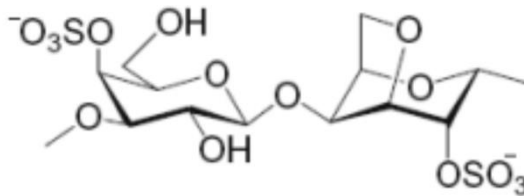
**Tabel 2.7** Unit-unit Karaginan

Fraksi Karaginan	Monomer
Kappa	D-galaktosa-4-sulfat

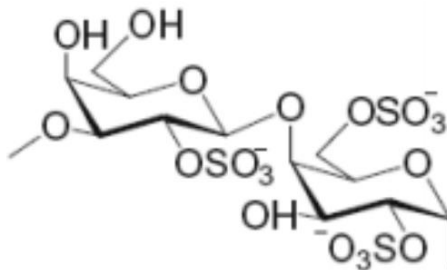
	3,6-anhidro-D-galaktosa
Iota	D-galaktosa-4-sulfat
	3,6-anhidro-D-galaktosa-4-sulfat
Lambda	D-galaktosa-2-sulfat
	D-galaktosa-2,6-disulfat



**Gambar 2.7** Struktur kimia Kappa Karaginan



**Gambar 2.8** Struktur kimia Iota Karaginan



**Gambar 2.9** Struktur kimia Lambda Karaginan

Karaginan sering kali digunakan dalam industri farmasi sebagai pengemulsi (sebagai contoh dalam emulsi minyak hati), sebagai larutan granulasi dan pengikat (sebagai contoh tablet, elexier, sirup, dll). Disebutkan bahwa depolimerisasi yang tinggi dari jata-karaginan digunakan sebagai obat dalam terapi gastrik yang bernanah, yang mungkin tidak mempunyai efek fisiologis sampingan. Karaginan digunakan juga dalam industri kosmetika sebagai stabiliser, suspensi, dan pelarut. Produk kosmetik yang sering menggunakan adalah salep, cream, lotion, pasta gigi, tonic rambut, stabilizer sabun, minyak pelindung sinar matahari, dan lainnya. Karaginan juga digunakan dalam industri kulit, kertas, tekstil, dan sebagainya. (Suparmi, 2009)

#### **II.14. Ekstraksi *Hydrothermal***

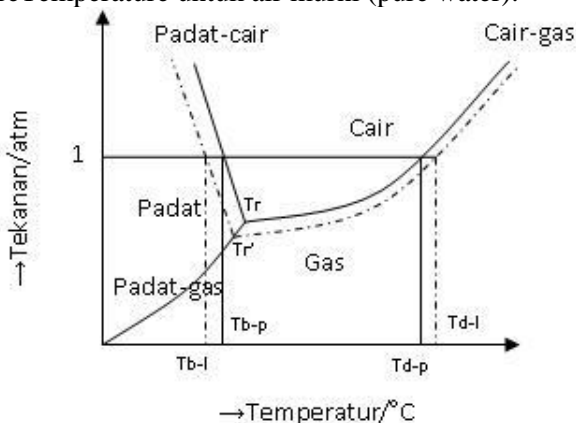
Secara umum, kondisi hydrothermal adalah suatu kondisi yang melibatkan air bertekanan tinggi dan bersuhu tinggi, bisa berupa subcritical water atau supercritical water. Air yang berada pada temperatur lebih tinggi dari titik didih ambiennya bisa diaplikasikan untuk ekstraksi. Pada suhu lebih rendah, jenis kandungan ionik dan polar akan terekstrak, sedangkan pada suhu lebih tinggi, substansi nonpolar akan terlarut dan terekstrak. Air menghilangkan substansi komponen nonpolar dengan menginteraksikannya dengan substrat dan melemahkan gaya ikatannya (Rogalinski, 2008).

Keuntungan metode hidrothermal untuk ekstraksi ini adalah kemampuan untuk membuat ekstrak yang tidak stabil pada titik leburnya. Selain itu, metode ini tidak membutuhkan senyawa organik sebagai pelarutnya. Metode ini ramah lingkungan dan serbaguna karena tidak melibatkan pelarut organik. Selain itu, bahan yang memiliki tekanan uap tinggi di dekat titik lebur juga dapat tumbuh dengan metode hydrothermal. (Schmid, 2004)

Air yang digunakan dalam proses ekstraksi hidrothermal ini adalah subcritical water yang memiliki sifat fisik tetap berbentuk

liquid dalam rentang suhu  $100\text{ }^{\circ}\text{C}$  sampai  $374\text{ }^{\circ}\text{C}$  dan dalam kondisi bertekanan. Air ini memiliki dua sifat unik, sifat yang pertama adalah ion product yang tinggi pada suhu yang tinggi. Kenyataan ini menunjukkan bahwa air dapat bertindak sebagai katalis asam maupun basa. Air ini juga mampu dikatalisis oleh proses kondensasi peptida, asam dikarboksilat, dan isomer dari asam lemak dan sakarida. Sifat lainnya adalah konstanta dielektrik yang relatif rendah. Konstanta dielektrik subcritical water konstan pada suhu  $200^{\circ}\text{C}$  sampai  $300^{\circ}\text{C}$ , hampir sama dengan aseton dan methanol ambient. Hal ini menunjukkan bahwa air dapat digunakan untuk mengekstraksi zat hidrofobik dari sumber daya alam.

Kelarutan asam lemak dalam air diukur dan itu menunjukkan bahwa ikatan hidrogen antara molekul air menjadi sangat lemah pada suhu yang lebih tinggi dari  $150^{\circ}\text{C}$ . Pada subcritical water, juga ditemukan bahwa subcritical water memiliki kemampuan yang baik untuk melarutkan lipid. (Adachi, 2009) Gambar 2.6 berikut memperlihatkan diagram fase PressureTemperature untuk air murni (pure water).



**Gambar 2.10** P-T Fase Diagram untuk Air Murni (Pure Water)

## II.15. Penelitian Terdahulu

Davarnejad *et al* (2008) telah mengekstrak  $\beta$ -karoten dari *crude palm oil* (CPO) dengan CO<sub>2</sub> superkritis. Kondisi operasi yang digunakan adalah : tekanan pada 75, 125, dan 175 bar, temperatur pada 80, 100, dan 120°C dengan waktu ekstraksi selama 1, 3, dan 5 jam. Dari hasil eksperimen diperoleh bahwa yield maksimal  $\beta$ -karoten ( $1,741 \times 10^{-2}\%$ ) didapat pada tekanan 75 bar, temperatur 120°C, dan waktu ekstraksi 1 jam. Jadi disimpulkan bahwa CPO banyak mengandung  $\beta$ -karoten dan dengan proses ekstraksi fluida superkritis dapat meningkatkan nilai kelayakan makan dari CPO.

Toro *et al* (2014) melakukan penelitian mengenai ekstraksi fluida superkritis yang terintegrasi dengan hidrolisis air subkritis untuk memperoleh komponen bioaktif dari ampas kelapa sawit hasil pengepresan. Pada proses ekstraksi fluida superkritis menggunakan pelarut SC-CO<sub>2</sub> akan menghasilkan minyak yang kaya dengan kandungan karotenoid, sementara proses hidrolisis air subkritis menghasilkan hidrolisat dengan kadar gula yang tinggi. Dari penelitian ini dapat diketahui pengaruh dari tekanan (15 – 30 MPa) dan temperatur (318 K dan 328 K) terhadap karotenoid yang terekstrak. Yield minyak yang terekstrak akan meningkat terhadap kenaikan tekanan pada temperatur konstan. Namun kandungan  $\beta$ -karoten tertinggi diperoleh pada kondisi operasi 318 K dan 15 MPa.

Sreejamole dan Greeshma (2013) meneliti mengenai kandungan antioksidan dari ekstraksi alga merah jenis *Gracilaria corticata*. Dalam penelitian ini, ekstrak etanol dari *Gracilaria corticata* telah diuji mengenai kandungan antioksidan dan aktivitas sitotoksiknya. Penelitian menggunakan metode DPPH dan ditemukan nilai IC<sub>50</sub> dari ekstraksi etanol sebesar 1,93 mg/mL.

Norziah dan Ching (2000) telah melakukan penelitian komposisi gizi dari *Gracilaria changgi* untuk menentukan senyawa kimia, mineral, vitamin C,  $\beta$ -carotene, lemak bebas, dan

asam amino yang terkandung di dalamnya. Dari penelitian ini didapatkan data bahwa *Gracilaria changggi* mengandung asam lemak tidak jenuh (74%), yang sebagian besar adalah asam lemak omega, dan 26 % asam lemak jenuh (terutama asam palmitic) dan juga kalsium dan zat besi dengan tingkat kandungan yang tinggi.

Singh et al (2011) melakukan penelitian mengenai Ekstraksi menggunakan air subkritis pada temperature dan waktu yang berbeda. Dari penelitian ini didapatkan bahwa Semakin tinggi temperatur kandungan TPC semakin meningkat akan tetapi akan menurun setelah suhu 180°C karena terjadi degradasi dan waktu yang dibutuhkan untuk hasil maksimal adalah 120 menit.

Drajat dan Juwita (2015) meneliti mengenai Ekstraksi menggunakan air subkritis pada temperature dan tekanan yang berbeda. Dan mendapatkan hasil bahwa Kenaikan Suhu dan Tekanan berbanding lurus dengan kenaikan yield karagenan, kandungan TPC dan Efisiensi Antioksidan.

Farah dan Nazla (2016) telah mengekstrak alga *Euclima cottonii* dan *Gracilaria sp* menggunakan CO<sub>2</sub> Superkritis dengan ethanol sebagai entrainer dengan tekanan dan temperatur yang berbeda dan mendapatkan hasil bahwa Kondisi optimum untuk mendapatkan banyak  $\beta$ -katoten dan asam linoleat yaitu pada suhu 60°C dan tekanan 25 MPa.



*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

Proses yang digunakan untuk mengekstrak alga merah *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp* yang mengandung senyawa fitokimia ( $\beta$ -karoten, Asam Linoleat, Total Fenol) dan karaginan adalah ekstraksi menggunakan CO<sub>2</sub> superkritis kemudian residu yang didapatkan dari proses ini diekstrak kembali menggunakan air subkritis. Pelarut yang digunakan dalam proses ekstraksi superkritis adalah pelarut karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) superkritis pada suhu operasi 60 °C dan tekanan operasi 25 MPa dengan laju alir CO<sub>2</sub> 15 ml/min dan laju air etanol 0,25 ml/min. Ekstrak kemudian dianalisa dengan *Spektrofotometer UV-Vis*.

Setelah diekstraksi dengan proses superkritis, residu selanjutnya diekstrak kembali dengan menggunakan air subkritis. Proses ini dilakukan pada berbagai kondisi operasi suhu dan tekanan. Suhu yang digunakan adalah 120°C, 140°C, 160°C dan 180°C, sedangkan tekananya yaitu 3 MPa, 5 MPa dan 7 MPa. Dengan proses ekstraksi menggunakan air subkritis ini diharapkan akan diperoleh pengetahuan tentang pengaruh kondisi operasi terhadap yield ekstrak serta untuk mendapatkan kondisi operasi terbaik untuk menghasilkan senyawa karaginan dengan kadar antioksidan dan kualitas yang baik. Hasil ekstrak *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp* dianalisa dengan metode spektrofotometri.

#### **III.1 Bahan dan Alat**

##### **III.1.1 Bahan Ekstraksi CO<sub>2</sub> superkritis**

1. Alga merah *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp*  
Didapatkan di Pesisir pantai Pamekasan, Madura
2. Karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) *liquid* dengan kemurnian 99,7 %  
Dibeli di PT. Samator
3. Etanol PA  
Dibeli di UD. Sumber Utama Kimia (SUK)
4.  $\beta$ -karoten standard

diperoleh dari Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Jepang untuk analisa *spektrofotometer UV-Vis* dan HPLC.

5. Asam Linoleat Standart  
diperoleh dari Wako Pure Chemical Industries, Ltd., Jepang untuk analisa *spektrofotometer UV-Vis*.

### **III.1.2 Bahan Ekstraksi menggunakan air subkritis**

1. Alga merah *Euचेuma cottonii* dan *Gracilaria sp*  
Didapatkan di Pesisir pantai Pamekasan, Madura
2. Air (*distilled water*)  
Air ini digunakan sebagai pelarut dalam proses hidrothermal. Air yang digunakan adalah air dengan suhu tinggi dan bertekanan tinggi, selain itu air juga digunakan sebagai pendingin dari campuran uap air dan uap ekstrak karagenan yang dihasilkan dari proses ekstraksi hidrothermal dari *Euचेuma cottonii* dan *Gracilaria sp*.
3. *1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH)  
*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl* (DPPH) digunakan untuk mengukur efisiensi antiradikal atau antioksidan dari ekstrak.
4. Folin ciocelteau  
Larutan Folin ciocelteau digunakan untuk mengukur kandungan total fenol yang terkandung dalam ekstrak *Euचेuma cottonii* dan *Gracilaria sp*.
5.  $\text{Na}_2\text{CO}_3$   
Larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7% digunakan untuk mengukur kandungan total fenol yang terkandung dalam ekstrak *Euचेuma cottonii* dan *Gracilaria sp*.
6. Asam Galat  
Sebagai senyawa standar fenol untuk membuat kurva kalibrasi.

### **III.1.2 Alat yang digunakan untuk ekstraksi**

#### **III.1.2.1 Alat yang digunakan untuk ekstraksi superkritis terdiri dari :**

##### **a. Chiller**

Chiller yang digunakan adalah Yamato Neocool Circulator CF 600. Chiller ini berfungsi sebagai pendingin bagi karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) sebelum masuk pompa. Hal ini dimaksudkan agar karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) tetap dalam keadaan cair sebelum masuk ke dalam kolom ekstraksi.

##### **b. Kolom Ekstraksi**

Kolom ekstraksi yang digunakan terbuat dari *stainless steel* yang berbentuk silinder dengan dimensi : tinggi 13 cm dan diameter dalam 2,06 cm.

##### **c. Collection vial**

*Collection vial* yang digunakan berbahan *poli propylene*. Alat ini sebagai penampung ekstrak dan tempat terpisahnya antara pelarut (CO<sub>2</sub>) dengan ekstrak.

##### **d. Oven**

Oven digunakan sebagai pemanas untuk menaikkan dan menjaga temperature operasi ekstraksi. Oven ini bisa beroperasi hingga mencapai suhu 200°C.

##### **e. BPR (*Back Pressure Regulator*)**

BPR berfungsi sebagai pengatur tekanan proses. BPR ini dapat menahan tekanan hingga 50 MPa. *Back Pressure Regulator* (BPR) dilengkapi dengan pemanas yang bertujuan agar CO<sub>2</sub> yang keluar dari *Back Pressure Regulator*(BPR) tidak mengalami *freezing* (pembekuan) sehingga tidak menyumbat *tube* produk yang keluar.

##### **f. *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) pump**

Ada 2 pompa yang digunakan :

1. Jasco PU-1586, pompa ini digunakan untuk memompa karbon dioksida (CO<sub>2</sub>) liquid sampai pada tekanan operasi yang diinginkan. Pompa mempunyai tekanan maksimum 50 MPa. Laju alir maksimal pada pompa adalah 20 mL/min.

2. Shimadzu LC-10AT VP, pompa ini digunakan untuk memompa *entrainer* dengan laju alir maksimal 9 mL/min.

g. *Gas Flowmeter*

*Gas Flowmeter* berfungsi sebagai pengukur banyaknya karbon dioksida yang terpakai selama proses berlangsung. Alat pengukur ini beroperasi dalam satuan m<sup>3</sup> dan liter, akan tetapi untuk penelitian ini yang dipakai adalah dalam satuan liter.

h. Gelas Ukur

Gelas ukur yang digunakan sebagai tempat *entrainer* yang akan dipompa. Gelas ukur yang digunakan berukuran 200 mL. Gelas ukur dilengkapi dengan *silicon tube* yang disambungkan ke pompa *entrainer*.

### III.1.2.2 Alat yang digunakan untuk ekstraksi *hydrothermal* terdiri dari:

a. *High Performance Liquid Chromatography (HPLC) Pump*

Pompa ini digunakan pada ekstraksi *hydrothermal* secara *semibatch* untuk memompa air pelarut kedalam ekstraktor sampai pada tekanan operasi yang diinginkan. HPLC *pump* yang digunakan yaitu Perkin Elmer series 200 Ic (Gambar 3.1), pompa ini digunakan pada ekstraksi *hydrothermal* secara *semibatch* untuk memompa air pelarut kedalam ekstraktor sampai pada tekanan operasi yang diinginkan. HPLC *pump* ini bisa menaikkan tekanan *liquid* hingga mencapai 40 MPa.



**Gambar 3.1** Perkin Elmer Series 200 Ic

b. Ekstraktor

Digunakan sebagai tempat ekstraksi *hydrothermal* secara *semibatch* dari *starting material* berupa residu dari proses superkritis. Jenis ekstraktor ini adalah *fixed bed*, dimana di kedua sisinya (*inlet* dan *outlet*) terdapat filter dengan ukuran 50  $\mu\text{m}$ . Kolom ekstraksi yang digunakan terbuat dari *stainless steel* yang berbentuk silinder.

c. Oven

Oven (Gambar III.2) digunakan sebagai pemanas untuk menaikkan dan menjaga suhu operasi ekstraksi. Oven digunakan sebagai pemanas untuk menaikkan dan menjaga suhu operasi. Oven merk Memmert UN 55 dengan bahan *stainless steel* ini dapat beroperasi hingga mencapai suhu 300°C, voltage sebesar 230 V.



**Gambar 3.2** Oven

d. Cooler

*Cooler* digunakan sebagai pendingin campuran uap air dan uap ekstrak karagenan yang dihasilkan dari proses ekstraksi secara *hydrothermal*. Bahan yang digunakan sebagai pendingin adalah air. Aliran air pendingin ini arahnya *counter current* terhadap aliran ekstrak.

e. Filter

Filter yang terbuat dari *stainless steel* dengan ukuran pori-pori yaitu 7  $\mu\text{m}$  berfungsi untuk menyaring partikel-partikel yang mungkin terlarut di dalam ekstrak.

f. *Back Pressure Regulator (BPR)*

BPR berfungsi sebagai pengatur tekanan proses. BPR ini dapat menahan tekanan hingga 40 MPa. BPR dilengkapi dengan pemanas yang bertujuan agar karbon dioksida yang keluar dari BPR tidak mengalami *freezing* (pembekuan) sehingga tidak menyumbat *tube* produk yang keluar.

g. *Collection Vial*

Alat ini sebagai penampung ekstrak dan tempat terpisahannya antara pelarut air dengan ekstrak.

### **III.1.2.3 Alat Analisa Kandungan**

a. *Spektrofotometer UV-Vis*

*Spektrofotometer UV-Vis* digunakan sebagai alat untuk menganalisa komponen secara kuantitatif senyawa karotenoid, asam lemak, kandungan total fenol dan efisiensi antiradikal dalam ekstrak. Spektrofotometer yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis Genesys 10S dari Thermo Scientific.

c. *FTIR (Fourier Transform Infra Red) Spectrofotometer*

FTIR jenis Spectrum Two *FT-IR Spectrophotometer* merk Perkin Elmer, Ltd buatan Inggris digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsional karagenan.

## **III.2 Prosedur Eksperimen**

### **III.2.1 Prosedur Eksperimen Ekstraksi Superkritis**

Eksperimen ini dibagi menjadi 4 tahap, yaitu :

1. Persiapan bahan baku
2. Tahap ekstraksi
3. Tahap *cleaning*
4. Tahap analisa

#### **III.2.1.1 Tahap Persiapan Bahan**

Rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp* yang telah diambil dari perairan Madura dicuci bersih dengan menggunakan air tawar. Pencucian dengan air tawar dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran dan kandungan garam yang masih menempel pada rumput laut. Selanjutnya

rumpun laut ditiriskan untuk menghilangkan sisa air dari pencucian rumput laut. Selanjutnya rumput laut akan mengalami pengeringan didalam oven pada suhu 60°C selama 24 jam. Rumput laut yang sudah dikeringkan kemudian digiling hingga mengalami size reduction. Hal ini bertujuan untuk memperbesar luas kontak ekstraksi alga dengan pelarut. Di bagian bawah (*inlet*) dan atas (*outlet*) ekstraktor ditambahkan *glassbead* sebanyak masing-masing 5 gram. Penambahan *glassbead* ini bertujuan untuk mencegah terjadinya *channeling*. Setelah itu, memasang ekstraktor pada rangkaian peralatan ekstraksi superkritis. Lalu dimasukkan ke dalam ekstraktor.

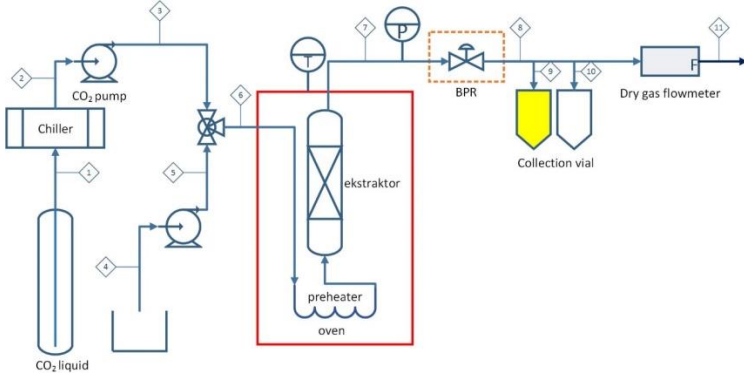
### III.2.1.2 Tahap Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan pada peralatan ekstaksi CO<sub>2</sub> superkritis dengan skema diagram seperti terlihat pada gambar III.1. Tahapan ekstraksi adalah sebagai berikut :

1. Memastikan peralatan sudah terhubung dengan sumber listrik dan BPR (*Back Pressure Regulator*) dalam keadaan tertutup.
2. Menghidupkan *chiller* dan menetapkan set temperaturnya pada -6 °C.
3. Setelah *chiller* mencapai temperature yang diinginkan, oven dihidupkan dan menetapkan pada temperatur operasi, yaitu 60°C
4. Menghidupkan pompa CO<sub>2</sub> dan menunggu sampai kondisi pompa di monitor stabil.
5. Membuka *valve* tabung CO<sub>2</sub>, kemudian mengatur flowrate CO<sub>2</sub> pada 15 ml/min
6. Memompa CO<sub>2</sub> yang keluar dari *chiller* dengan menekan tombol "*pump*" pada pompa HPLC hingga tekanannya naik sesuai variabel tekanan (25 MPa)
7. Setelah itu mengalirkan CO<sub>2</sub> ke dalam oven yang dilengkapi dengan *pre-heater* yang telah diset dengan temperature tersebut, kondisi CO<sub>2</sub> telah menjadi kondisi fluida superkritis



8. Secara kontinyu mengontakkan CO<sub>2</sub> superkritis dengan *starting material* didalam ekstraktor.
9. Menghidupkan pompa etanol dan menunggu sampai kondisi pompa di monitor stabil.
10. Membuka *valve* etanol kemudian mengatur flowratanya pada 0,25 ml/min.
11. Memompa etanol dengan menekan tombol "pump" pada pompa HPLC hingga tekanannya naik (>25 MPa)
12. Pengambilan ekstrak dilakukan dengan cara menampungnya pada *collection vial*.



**Gambar 3.3** Skema Peralatan Ekstraksi Superkritis

### III.2.1.3 Tahap *Cleaning*

Tahap *cleaning* dilakukan setelah percobaan yang bertujuan untuk membersihkan sisa - sisa ekstrak yang tertinggal di dalam ekstraktor maupun di dalam *tube*. *Cleaning* dilakukan dengan cara memompa ethanol dan CO<sub>2</sub> superkritis ke dalam ekstraktor yang kemudian ditampung di *collection vial*. Pencucian ini dilakukan sampai zat yang keluar di *collection vial* berwarna jernih.

### III.2.1.4 Tahap Analisa

Hasil ekstraksi (ekstrak) yang diperoleh disimpan dalam *collection vial* yang telah dibungkus dengan aluminium foil dan

disimpan dalam *freezer*. Ekstrak dianalisa beratnya dengan menggunakan neraca sehingga dapat dihitung total ekstrak, yaitu berat ekstrak dibagi dengan berat *starting material* yang dimasukkan ke dalam ekstraktor (gr/gr sampel). Kemudian ekstrak dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

#### **III.2.1.4.1 Spektrofotometer UV-Vis**

Spektrofotometer yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis Genesys 10S dari Thermo Scientific. Kuvet kuarsa digunakan sebagai tempat sampel pada saat analisa. Kemudian mengatur panjang gelombang pada spektrofotometer. Spektrofotometer dikalibrasi dengan cairan blangko yaitu *n-hexane* yang dimasukkan ke dalam kuvet. Kemudian mengatur panjang gelombang pada spektrofotometer. Untuk menganalisa kandungan  $\beta$ -karoten, panjang gelombang yang digunakan berturut-turut adalah 450 nm. Setelah itu membuat larutan standar  $\beta$ -karoten yang dilarutkan dengan *n-hexane*. Larutan standar  $\beta$ -karoten dibuat dengan konsentrasi 5 – 25 ppm. Kemudian mengukur absorbansi pada masing – masing konsentrasi untuk mendapatkan kurva kalibrasi.

Untuk menghitung berat  $\beta$ -karoten yang berhasil terekstrak dilakukan perbandingan absorbansi dengan larutan standar yang telah dibuat. Ekstrak dilarutkan dalam 3 ml *n-hexane* lalu diukur nilai absorbansi-nya. Nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan ke dalam persamaan garis yang telah didapat dari kurva kalibrasi. Kemudian dapat dihitung total ekstrak  $\beta$ -karoten yaitu berat  $\beta$ -karoten yang terekstrak dibagi dengan berat *starting material* yang dimasukkan ke dalam ekstraktor (mg/gr sampel). Hal serupa juga dilakukan untuk menganalisa Asam Linoleat. Panjang gelombang asam linoleat yaitu 195 nm.

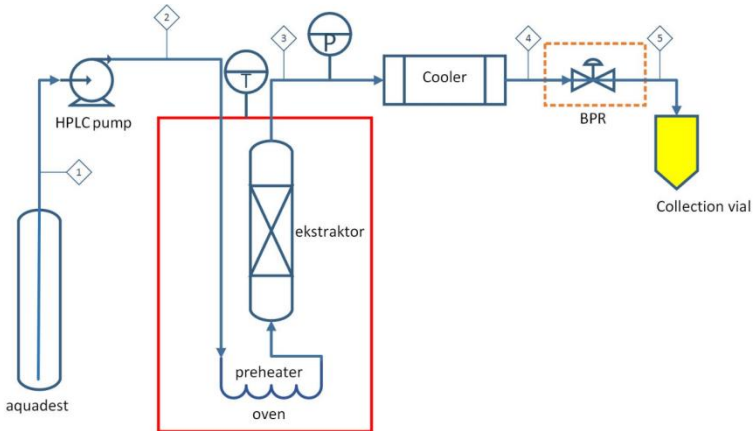
### III.2.2 Prosedur Eksperimen Ekstraksi *Hydrothermal*

Percobaan ini terbagi menjadi 2 tahap, yaitu tahap proses ekstraksi, dan tahap analisa.

#### III.2.2.1 Proses Ekstraksi

Pada proses ekstraksi secara hidrothermal ini, pelarut yang digunakan adalah air pada suhu diatas 100°C dan tekanan diatas 1 atm. Skema peralatan ekstraksi ditunjukkan pada Gambar III.5. Mula-mula, rumput laut kering yang telah mengalami *size reduction*, dengan berat rumput laut *Gracilaria sp* sebanyak 1 gram dan *Eucheumma cottonii* sebanyak 1 gram dimasukkan ke dalam ekstraktor dan setelah itu ekstraktor dipasang pada rangkaian alat ekstraksi didalam oven. Selanjutnya *distilled water* dipompa ke dalam ekstraktor menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*) Pump. HPLC pump ini berfungsi untuk menaikkan tekanan air sesuai dengan kondisi operasi ekstraksi secara hidrothermal. Tekanan juga diatur menggunakan BPR dengan cara menutup BPR sampai tekanan yang diinginkan.

Dalam penelitian ini tekanan yang digunakan adalah 3, 5 dan 7 MPa. Kemudian, air tersebut dipanaskan menggunakan preheater didalam oven/furnace hingga mencapai suhu ekstraksi. Suhu ekstraksi yang digunakan adalah 120°C, 140°C, 160°C dan 180°C. Kemudian, air dari *preheater* dialirkan ke dalam ekstraktor untuk mengekstraksi rumput laut yang terdapat di dalam ekstraktor dalam oven. Untuk memastikan suhu di dalam ekstraktor sesuai dengan suhu yang diinginkan, suhu air masuk dan keluar ekstraktor masing-masing diukur dengan *termocople* T1 dan T2. Setelah itu, larutan ekstrak karagenan yang telah dihasilkan tersebut didinginkan di dalam cooler. Kemudian, ekstrak karagenan yang telah diperoleh ditampung di dalam botol/collection vial setelah melalui BPR. Pengambilan larutan sampel dilakukan setiap 30 menit sekali selama 180 menit. Larutan ekstrak selanjutnya disimpan dalam lemari es untuk dianalisa.



**Gambar 3.4** Skema Proses Ekstraksi secara *hydrothermal*

### III.2.2.2. Tahap Analisa

#### III.2.2.2.1. Analisa Kandungan Karagenan

Analisa kandungan karagenan yang terkandung dalam ekstrak dapat dilakukan dengan cara sebagai berikut. Hasil ekstrak ditampung dalam cawan penguap berisi etanol teknis 90% dengan volume dua kali volume filtrate, sambil diaduk hingga terbentuk serat karagenan (hidrokoloid). Setelah didiamkan 30 menit, cawan penguap selanjutnya dipanaskan didalam oven dengan suhu 60°C selama 24 jam. Setelah 24 jam didapat hasil berupa lembaran karagenan kering yang kemudian dihaluskan sampai berbentuk bubuk (powder) untuk kemudian ditimbang dan dihitung yield-nya serta dilakukan analisa identifikasi dengan menggunakan FTIR (*Fourrier Transfer Infra Red*) untuk mengidentifikasi gugus fungsional karagenan. Untuk menghitung yield dari karagenan

digunakan persamaan (3.1) berikut:

$$Yield \text{ Karagenan } (\%) = \frac{\text{Berat Karagenan Kering}}{\text{Berat Rumput Laut Kering}} \times 100\% \quad (3.1)$$

(Destantiana, dkk, 2010)

### III.2.2.2.2. Analisa Kandungan Total Phenolic Compound

Kandungan *total phenolic compound* dalam ekstrak dapat ditentukan dengan cara sebagai berikut. Mula-mula ekstrak sebanyak 1 mL ditambahkan aquades sebanyak 2 mL. Ke dalam larutan tersebut dimasukkan 1 mL reagen *Folin Ciocalteu* sambil dilakukan pengadukan, selanjutnya larutan didiamkan selama 5 menit. Larutan selanjutnya ditambahkan 1 mL larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  7%. Larutan campuran tersebut kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar di ruangan gelap. Kemudian absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 750 nm. Absorbansi yang terbaca merupakan nilai x yang dimasukkan ke dalam persamaan garis yang didapat dari pembuatan kurva standar asam galat pada konsentrasi 0-200 mg/L. Dengan demikian akan diperoleh kandungan total fenol (nilai y) sampel yang dinyatakan sebagai mg ekuivalen asam galat/g sampel ekstrak (Djapiala,dkk. 2012).

### III.2.2.2.3. Analisa Efisiensi Antioksidan

Untuk analisa efisiensi antiradikal/antioksidan, metode yang digunakan adalah *DPPH assay*. *DPPH assay* adalah metode yang mudah dan akurat untuk mengukur kapasitas antioksidan sayuran, buah, dan ekstrak. DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhidrazil*) adalah salah satu radikal nitrogen organik yang tersedia secara komersial. Analisa efisiensi antiradikal/antioksidan dilakukan dengan cara sebagai berikut: mula-mula mempersiapkan larutan DPPH dalam methanol dengan konsentrasi 25 ppm. Mengukur absorbansi larutan DPPH menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi kontrol. Absorbansi ekstrak diukur dengan cara menambahkan 800  $\mu\text{L}$  ekstrak ke dalam 2 mL larutan DPPH 25 ppm dan mencampurnya. Absorbansi ekstrak yang telah dicampur dengan DPPH diukur setiap menit sampai absorbansi konstan pada panjang gelombang yang sama (516 nm). Selanjutnya persen DPPH yang tersisa dihitung dengan persamaan (3.2) berikut:

$$\%DPPH_{rem} = 100 \times \frac{[DPPH]_{rem}}{[DPPH]_{t=0}} \quad (3.2)$$

[DPPH]<sub>rem</sub> adalah absorbansi ekstrak pada waktu tertentu, dan [DPPH]<sub>control</sub> adalah absorbansi DPPH mula-mula, dan efisiensi antiradikal/antioksidan dihitung dengan persamaan (3.3) berikut:

$$AE = \frac{1}{EC_{50} \times t_{EC50}} \quad (3.3)$$

EC<sub>50</sub> adalah konsentrasi ekstrak yang menyebabkan penurunan 50% absorbansi DPPH awal, dan t<sub>EC50</sub> adalah waktu yang dibutuhkan untuk mencapai keadaan steady pada konsentrasi

EC<sub>50</sub> (Zhang, 2007).

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Penelitian ini mempelajari pengaruh kondisi operasi dalam ekstraksi senyawa fitokimia dari rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp* menggunakan metode ekstraksi dengan fluida karbondioksida superkritis yang dilanjutkan dengan ekstraksi dengan air subkritis terhadap *yield* total ekstrak, kandungan karagenan, kandungan *total phenolic compound* (TPC), serta efisiensi antioksidan. Dalam percobaan ini dilakukan berbagai variasi kondisi operasi pada metode air subkritis yaitu tekanan dan suhu operasi.

Terdapat dua proses ekstraksi pada penelitian ini, pertama-tama *starting material* yaitu rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp*. diekstrak menggunakan pelarut CO<sub>2</sub> superkritis kemudian residu yang didapatkan dari proses ini diekstrak kembali dengan air subkritis. Metode ini bertujuan untuk mengekstrak kandungan zat fitokimia yang terdapat dalam *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp*. Sebelum dilakukan proses ekstraksi, rumput laut (*Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp*) dihaluskan terlebih dahulu menjadi ukuran yang lebih kecil. Proses penghalusan tersebut akan menyebabkan luas area interaksi antara *solute* dan *solvent* akan semakin besar, menyebabkan kerusakan pada dinding sel, dan akan menurunkan hambatan daripada transfer massa. Hal-hal tersebut akan dapat meningkatkan *yield* ekstrak, serta meningkatkan pula kandungan zat fitokimia dalam ekstrak.

#### **IV.1 Ekstraksi CO<sub>2</sub> Superkritis**

Ekstraksi menggunakan karbondioksida superkritis dilakukan terlebih dahulu pada *starting material* dengan kondisi operasi suhu 60° C, tekanan 25 MPa dan *flowrate* CO<sub>2</sub> sebesar 15 ml/min selama 3 jam dengan laju alir ethanol 0,25 ml/min selama 2 jam. Produk yang dihasilkan dari ekstraksi superkritis yaitu β-karoten dan asam linoleat. Penambahan ethanol diperlukan untuk



meningkatkan solvent power sehingga ekstrak dapat diambil maksimal. Namun kondisi ethanol pada percobaan ini dalam fase sub kritis, dikarenakan untuk mendapatkan ethanol yang superkritis harus dalam tekanan dan suhu yang lebih tinggi. Penambahan ethanol pada percobaan ini tidak terlalu mempengaruhi diagram fase dari CO<sub>2</sub> yang superkritis. Karena penambahan ethanol sedikit atau kurang dari 20% volume. Berdasarkan hasil analisa dengan Spektrofotometer UV-VIS dari hasil ekstraksi tersebut, didapatkan kandungan  $\beta$ -karoten dan asam linoleat di dalam *Eucheuma cottonii* berturut-turut sebesar 209,91 dan 321,025  $\mu\text{g/g}$  sampel, sementara untuk *Gracilaria sp* didapat kandungan  $\beta$ -karoten dan asam linoleat sebesar 219,994 dan 286,516  $\mu\text{g/g}$  sampel.

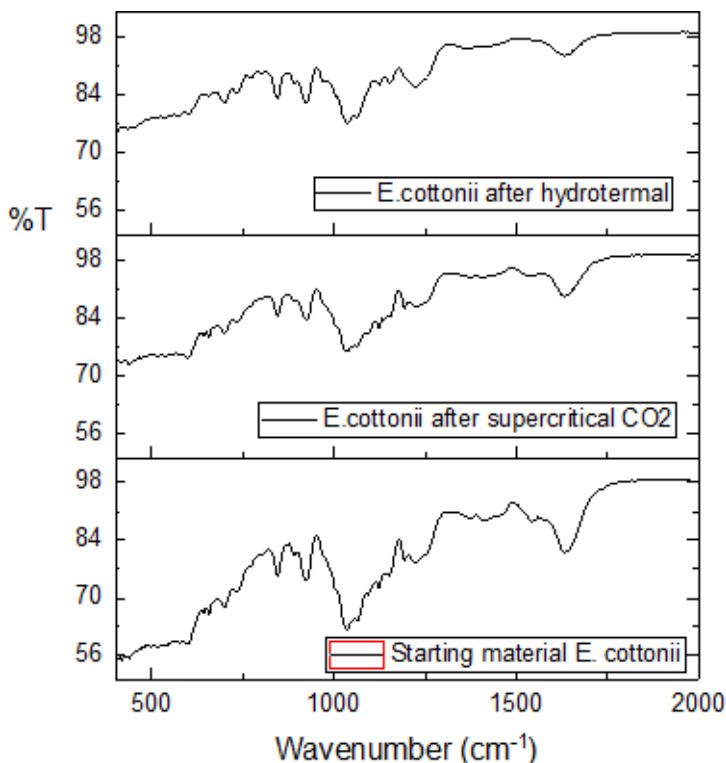
## **IV.2 Ekstraksi Air Subkritis**

Setelah diekstrak menggunakan karabondioksida superkritis, residu selanjutnya diekstrak kembali menggunakan air subkritis. Variabel suhu operasi yang digunakan adalah 120°C, 140 °C, 160 °C dan 180 °C. Sedangkan variabel tekanan operasi yang digunakan dalam ekstraksi semi batch ini adalah 3 MPa, 5 MPa, dan 7 MPa. Dalam penelitian ini digunakan dua jenis rumput laut, yaitu *Gracilaria sp* dan *Eucheuma cottonii*. Berdasar variabel percobaan yang telah dilakukan, maka didapatkan hasil analisa dari penelitian ini berupa pengaruh kondisi operasi terhadap *yield* karagenan, kandungan *total phenolic compound* dan efisiensi antioksidan yang ada didalam rumput laut.

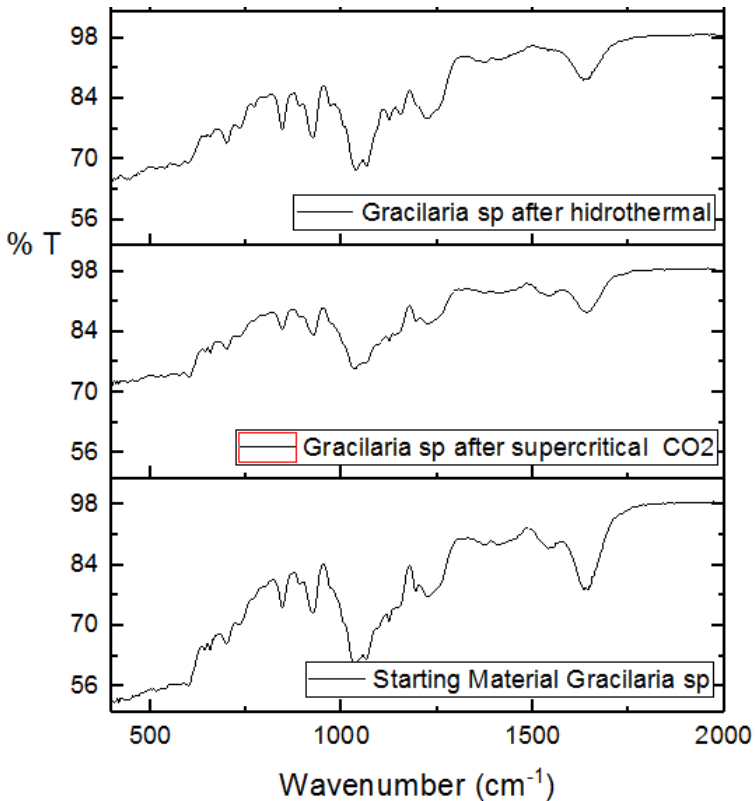
### **IV.2.1 Pengaruh Kondisi Operasi terhadap Yield Karagenan**

Suhu dan tekanan operasi adalah dua variabel penting yang tidak bisa dipisahkan pada ekstraksi dengan air subkritis. Dua variabel tersebut akan menentukan seberapa kepolaran air pada kondisi subkritis. Pengaruh suhu dipelajari pada suhu 120°C sampai dengan 180 °C dan tekanan pada 3 MPa sampai dengan 7 MPa.

Gambar 4.1 dan 4.2 merupakan hasil analisa FTIR (*Fourrier Transfer Infra Red*) pada *starting material* dan residu. Dari gambar tersebut, terlihat bahwa karagenan telah terekstrak, karena *peak* karagenan yang terdiri dari ikatan ester sulfat (O=S=O) pada *range* 1210–1260  $\text{cm}^{-1}$ , ikatan *glycosidic* pada *range* 1010 – 1080  $\text{cm}^{-1}$ , ikatan *3,6-anhydro-D-galactose* pada *range* 928-933  $\text{cm}^{-1}$  dan ikatan *D-galactose-4-sulphate* pada *range* 840-850  $\text{cm}^{-1}$  pada residu lebih landai daripada *peak* pada *starting material*.



**Gambar 4.1** Kromatografi FTIR Starting Material dan Residu *Eucheuma cottonii*

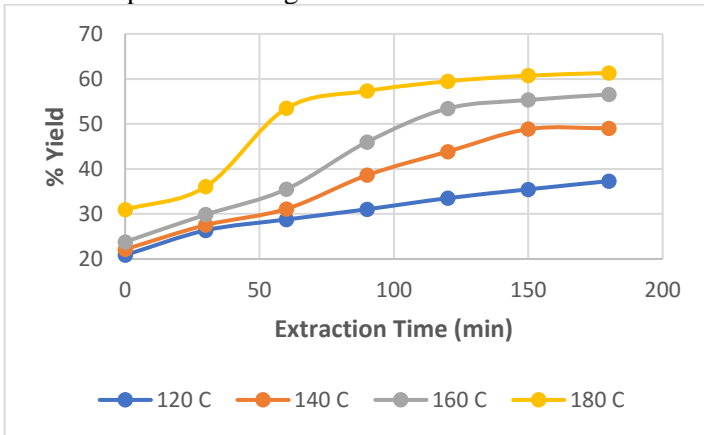


**Gambar 4.2** Kromatografi FTIR Starting Material dan Residu *Gracilaria sp*

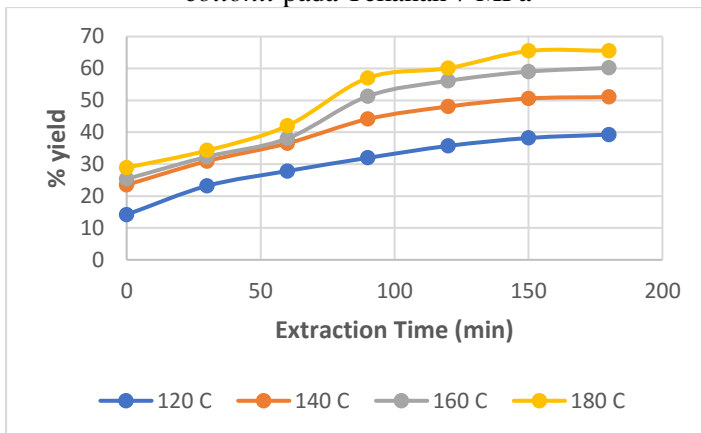
#### IV.2.1.1 Pengaruh Suhu Operasi Terhadap *Yield* Karagenan

Suhu merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi kondisi operasi dari ekstraksi hidrothermal. Kenaikan suhu akan menyebabkan penurunan permitivitas, peningkatan laju difusivitas, serta penurunan viskositas dan tegangan permukaan. Pada ekstraksi hidrothermal harus dilakukan pada suhu yang relatif tinggi namun dibawah suhu degradasi dari suatu senyawa (Khajenoori, 2010). Oleh karena itu, suhu merupakan variabel yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi hidrothermal.

Pengaruh suhu terhadap *yield* karagenan dipelajari pada tekanan konstan sebesar 7 MPa dengan variasi suhu operasi sebesar 120<sup>o</sup>C, 140 <sup>o</sup>C, 160 <sup>o</sup>C dan 180 <sup>o</sup>C. *Yield* karagenan dihitung menggunakan persamaan (3.1), yaitu perbandingan antara massa karagenan yang terkandung dalam *starting material* per berat rumput laut kering.



**Gambar 4.3** Pengaruh Suhu Terhadap *Yield* Karagenan *Eucheuma cottonii* pada Tekanan 7 MPa



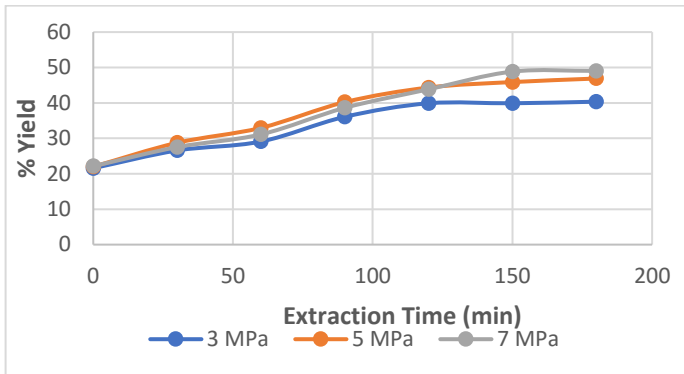
**Gambar 4.4** Pengaruh Suhu Terhadap *Yield* Karagenan *Gracilaria sp* pada Tekanan 7 MPa

Grafik 4.3 dan 4.4 berturut-turut menunjukkan pengaruh suhu ekstraksi terhadap *yield* karagenan untuk rumput laut *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp.* pada tekanan 7 MPa. Dari kedua grafik tersebut terlihat bahwa ekstrak karagenan terbanyak diperoleh pada suhu operasi 180<sup>o</sup> C. *Yield* karagenan cenderung meningkat seiring dengan meningkatnya suhu operasi ekstraksi hidrothermal dari rentang 120<sup>o</sup>C sampai 180<sup>o</sup>C. Pada umumnya, substansi/komponen akan semakin banyak terekstrak pada suhu yang lebih tinggi dikarenakan bertambahnya kelarutan substansi tersebut pada suhu tinggi (Ozel et al., 2003 dalam Ratna, 2013). Hal ini terjadi karena peningkatan suhu operasi akan mengakibatkan penurunan tegangan permukaan dan viskositas dari *solute*, sehingga efisiensi ekstraksi akan meningkat (Mockel et al, 1987). Hal ini sesuai dengan eksperimen yang dilakukan oleh (Webber, 2012) yang menyatakan bahwa hubungan *yield* karagenan berbanding lurus dengan suhu ekstraksi. Kenaikan suhu juga menyebabkan kenaikan ion produk dan penurunan dielektrik konstan pelarut sehingga menyebabkan kenaikan kelarutan karagenan dalam air (Mockel et al, 1987). Pada grafik tersebut juga terlihat bahwa kandungan ekstrak mengalami kenaikan seiring bertambahnya waktu. Hal ini disebabkan oleh jalannya ekstraksi secara semi-batch, dimana *sub-critical water* sebagai pelarut mengalir secara kontinyu selama waktu ekstraksi yang ditentukan tanpa mengganti *starting material*. Namun setelah 150 menit, *yield* karagenan yang didapat cenderung konstan, dikarenakan ekstrak karagenan dalam rumput laut telah habis.

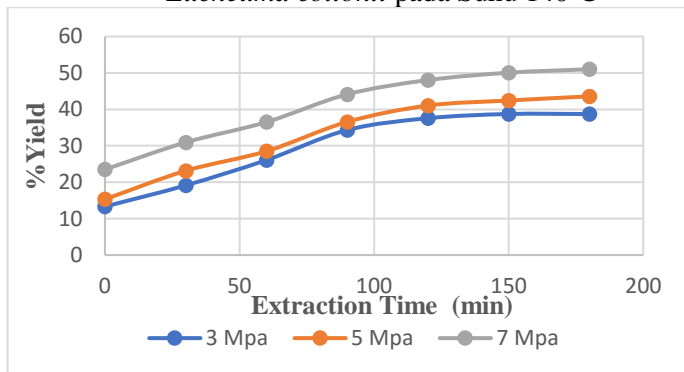
#### **IV.2.1.2 Pengaruh Tekanan Operasi Terhadap *Yield* Karagenan**

Selain menganalisa pengaruh suhu terhadap *yield* karagenan, dalam penelitian ini juga akan membahas pengaruh tekanan terhadap *yield* karagenan. Pengaruh tekanan terhadap proses ekstraksi pada penelitian ini dipelajari pada suhu 120<sup>o</sup>C

sampai dengan 180°C dengan variasi tekanan operasi sebesar 3, 5 dan 7 MPa.



**Gambar 4.5** Pengaruh Tekanan Terhadap *Yield* Karagenan *Eucheuma cottonii* pada Suhu 140°C



**Gambar 4.6** Pengaruh Tekanan Terhadap *Yield* Karagenan *Gracilaria sp.* pada Suhu 140°C

Pada gambar 4.5 dan 4.6 dapat dilihat pengaruh tekanan terhadap *yield* karagenin pada berbagai jenis rumput laut dengan suhu operasi 140°C. Berdasarkan data dari gambar tersebut, tekanan mempengaruhi *yield* karagenan, dimana kenaikan tekanan operasi menyebabkan naiknya jumlah ekstrak karagenan. Hanya saja kenaikan *yield* karagenan yang terjadi tidak begitu terlihat. Ini dimungkinkan karena kepolaran air tidak terlalu

berpengaruh oleh tekanan. Sebagai contoh, pada suhu 100°C, kenaikan tekanan dari 10 MPa menjadi 20 MPa hanya menaikkan konstanta dielektrik dari 55,9 menjadi 56,2 (Ohmori, 2004 dalam Ratna, 2013). Meskipun sangat kecil, pada gambar 4.6 terlihat kecenderungan kenaikan *yield* karagenan seiring dengan kenaikan tekanan. Hal ini bisa terjadi karena kenaikan tekanan menyebabkan kelarutan ekstrak dalam *solvent* meningkat sehingga ekstrak yang terambil lebih banyak. Selain itu, dengan menaikkan tekanan, jumlah *solvent* (*subcritical water*) per satuan volume semakin besar sehingga dapat meningkatkan kelarutan ekstrak ke dalam *solvent* dan menyebabkan ekstrak yang diperoleh lebih maksimal. Rangkuman pengaruh suhu dan tekanan ekstraksi terhadap *yield* karagenan untuk rumput laut *Gracilaria sp* dan *Eucheumma cottonii* dapat dilihat pada Tabel 4.1.

**Tabel 4.1** Pengaruh Kondisi Operasi Terhadap *Yield* Karagenan

Jenis Rumput Laut	Tekanan Operasi (MPa)	Suhu Operasi (°C)	<i>Yield</i> Karagenan (%)
<i>Gracilaria sp.</i>	3	120	33.51
		140	38.73
		160	42.72
		180	44.69
<i>Eucheuma cottonii</i>		120	28.16
		140	40.35
		160	45.92
		180	46.06
<i>Gracilaria sp.</i>	5	120	35.51
		140	48.84
		160	52.47

		180	58.84
<i>Eucheuma cottonii</i>	7	120	36.77
		140	46.89
		160	55.08
		180	58.09
<i>Gracilaria sp.</i>	7	120	39.26
		140	51.02
		160	60.19
		180	65.54
<i>Eucheuma cottonii</i>	7	120	37.30
		140	49.05
		160	56.55
		180	61.33

Dari Tabel 4.1 terlihat bahwa kondisi optimum ekstraksi hidrothermal untuk mengekstrak karagenan terjadi pada suhu 180°C dan tekanan 7 MPa. Hal tersebut terjadi dikarenakan dengan meningkatnya suhu dan tekanan operasi polaritas air semakin meningkat sehingga *yield* yang didapatkan juga akan semakin meningkat.

**Tabel 4.2** Pengaruh Kondisi Operasi Terhadap *Recovery* Karagenan

Jenis Rumput Laut	Tekanan Operasi (MPa)	Suhu Operasi (°C)	Recovery Karagenan (%)
<i>Gracilaria sp.</i>	3	120	51.99
		140	60.09
		160	66.28



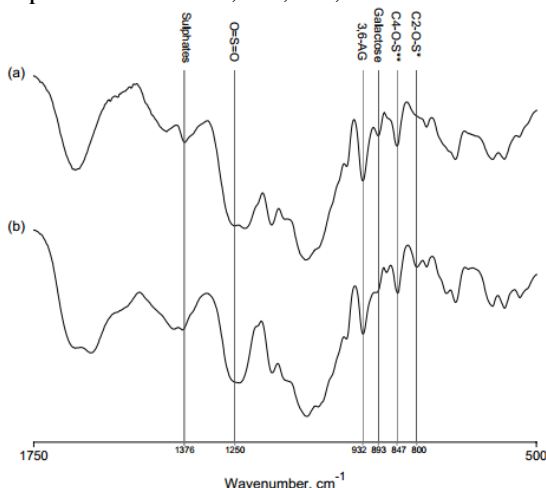
		180	69.33
<i>Eucheuma cottonii</i>		120	43.70
		140	62.61
		160	71.24
		180	71.47
<i>Gracilaria sp.</i>	5	120	55.09
		140	75.77
		160	81.41
		180	91.29
<i>Eucheuma cottonii</i>		120	57.05
		140	72.75
		160	85.46
		180	90.12
<i>Gracilaria sp.</i>	7	120	60.91
		140	79.15
		160	93.38
		180	101.68
<i>Eucheuma cottonii</i>		120	57.87
		140	76.09
		160	87.73
		180	95.15

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa % recovery optimum dicapai pada suhu 180°C dan tekanan 7 MPa. Hal tersebut terjadi karena dengan meningkatnya suhu dan tekanan operasi *yield* yang didapatkan juga akan semakin meningkat sehingga mengakibatkan % *recovery* yang didapatkan semakin besar. Dari data diatas juga menunjukkan bahwa ekstraksi hidrothermal lebih efisien daripada ekstraksi hidrodistilasi. Pada kondisi optimum ekstraksi hidrothermal dengan waktu ekstraksi 2,5 jam mampu me-

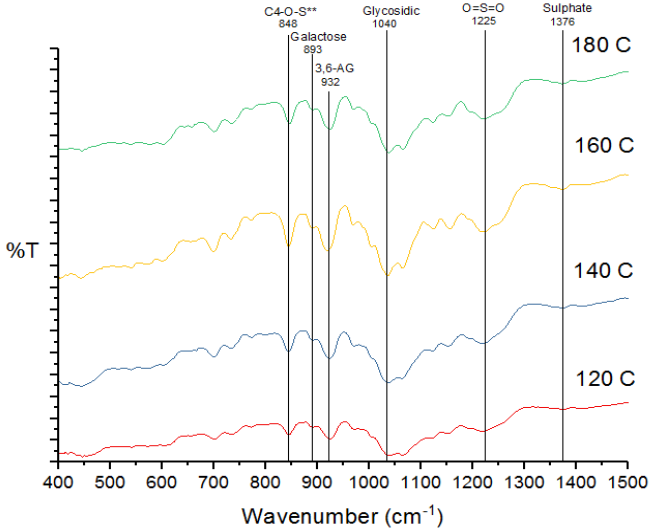
recovery 80% - 99% kandungan karagenan yang ada didalam rumput laut. Hal tersebut sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Khajenoori (2009) yang mendapatkan hasil bahwa yield yang dihasilkan dari ekstraksi hidrothermal lebih banyak dari pada ekstraksi dengan sokhlet maupun hidrodistilasi.

### IV.2.1.3 Karakterisasi Produk Karagenan

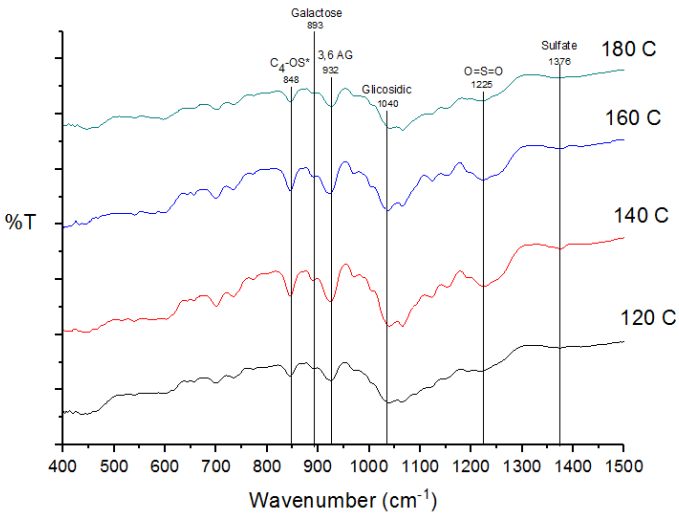
Analisa FTIR digunakan untuk mengetahui keberadaan gugus – gugus fungsi molekuler yang terdapat dalam suatu sampel, dimana kesamaan gugus – gugus fungsi yang terdapat antara standar dan sampel yang dianalisa memiliki gugus yang identik dengan gugus – gugus standar karagenan. Gambar 4.7 menunjukkan spectrum FTIR standar karagenan yang didapatkan dari literatur. Sedangkan spectrum FTIR karagenan ekstrak yang diperoleh dari rumput laut *Gracilaria sp* dan rumput laut *Euचेuma cottonii* pada berbagai suhu dan tekanan berturut-turut ditunjukkan pada Gambar 4.7, 4.8, 4.9, 4.10 dan 4.11.



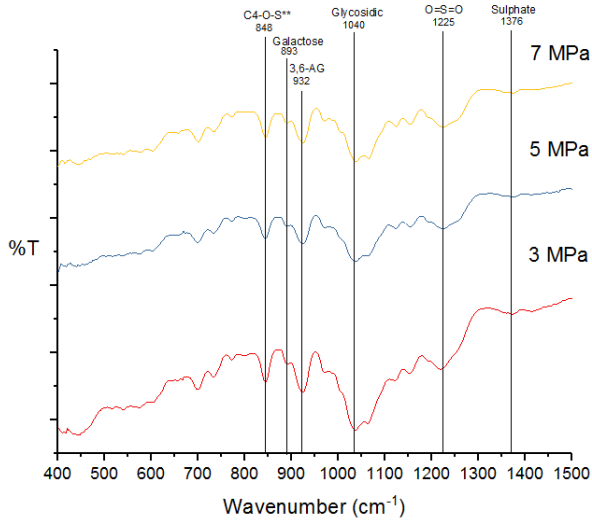
**Gambar 4.7** Spektrum FTIR Standar Karagenan (Tuvikene, 2006)



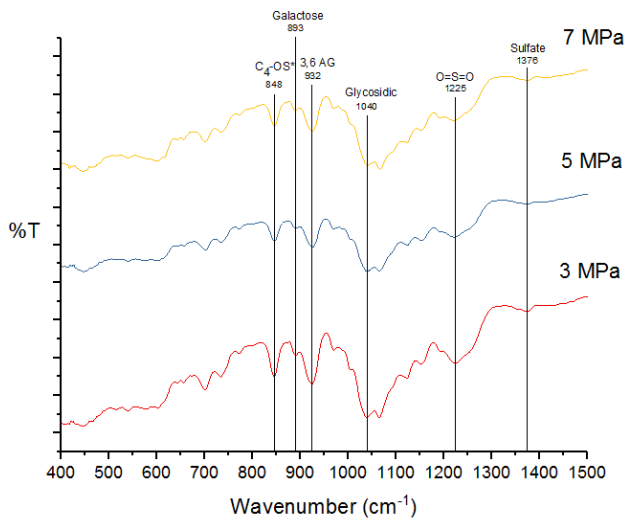
**Gambar 4.8** Spektrum FTIR Karagenan *Eucheuma cottonii* pada berbagai suhu dan tekanan 3 MPa



**Gambar 4.9** Spektrum FTIR Karagenan *Gracilaria sp.* pada berbagai suhu dan tekanan 3 MPa



**Gambar 4.10** Spektrum FTIR Karagenan *Eucheuma cottonii* pada berbagai tekanan dan suhu 140°C



**Gambar 4.11** Spektrum FTIR Karagenan *Gracilaria sp.* pada berbagai tekanan dan suhu 140°C

Dari spektrum produk karagenan yang telah didapatkan dari ekstraksi diketahui bahwa dari uji identifikasi menggunakan FTIR, produk karagenan telah memenuhi spesifikasi karagenan standar karena gugus–gugus fungsi yang terdapat pada spektrum sampel yang dihasilkan identik dengan spektrum standar jenis karagenan. Dalam spektrum FTIR dari senyawa karagenan yang terdapat pada gambar diatas terlihat adanya ester sulfat pada range 1210-1260  $\text{cm}^{-1}$ , ikatan glikosida pada range 1010-1080  $\text{cm}^{-1}$ , 3,6-anhidro-D-galaktosa pada range 928-933  $\text{cm}^{-1}$ , dan D-galaktosa-4-sulfat pada range 840-850  $\text{cm}^{-1}$ .

Karagenan yang terekstrak disini merupakan jenis kappa-karagenan (932 dan 848  $\text{cm}^{-1}$ ). Sulfat pada  $\text{C}_4$  (cincin galaktosa) ditunjukkan pada *peak* 840-850  $\text{cm}^{-1}$  seperti terlihat pada gambar diatas. Dua spektrum tersebut menunjukkan jenis  $\kappa$ -karagenin. Iota karagenan memiliki *peak* tambahan pada rentang 800-805  $\text{cm}^{-1}$  yang terkait dengan struktur 3,6-anhidro-D-galaktosa-2-sulfat yang tidak diamati pada spektrum gambar diatas. Struktur karagenan pada penelitian ini juga tidak menunjukkan spektrum yang sesuai dengan  $\lambda$ -karagenan (867  $\text{cm}^{-1}$ , 830  $\text{cm}^{-1}$ , dan 820  $\text{cm}^{-1}$ ). (Webber, 2012)

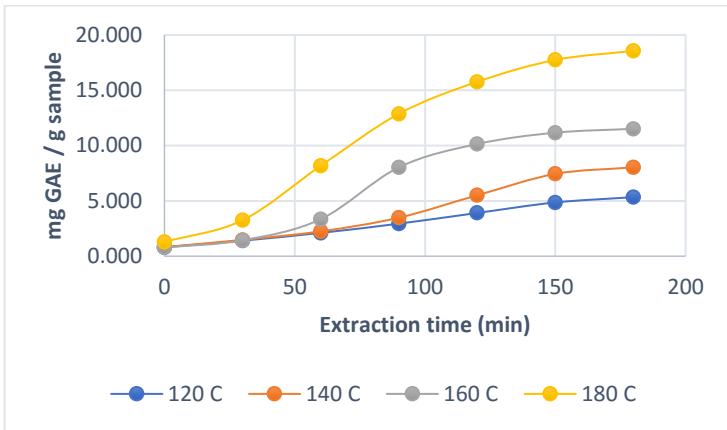
## **IV.2.2 Pengaruh Kondisi Operasi Terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound***

Pengaruh kondisi operasi terhadap kandungan *total phenolic compound* (TPC) dipelajari pada berbagai variasi 120 $^{\circ}\text{C}$ , 140 $^{\circ}\text{C}$ , 160 $^{\circ}\text{C}$  dan 180 $^{\circ}\text{C}$ , dan berbagai variasi tekanan 3 MPa, 5 MPa, dan 7 MPa. Dalam penelitian ini digunakan dua jenis rumput laut, yaitu *Euचेuma cottonii* dan *Gracilaria sp.*

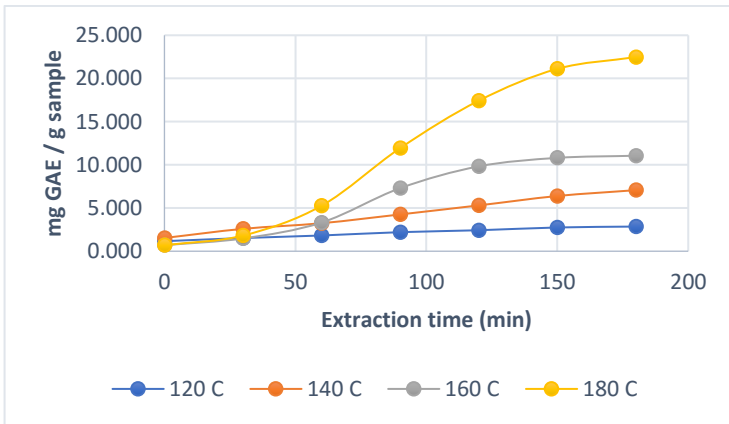
### **IV.2.2.1 Pengaruh Suhu Operasi Terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound***

Pengaruh suhu terhadap kandungan *Total Phenolic Compound* (TPC) dipelajari pada tekanan 3 MPa sampai dengan 7

MPa dengan variasi suhu operasi sebesar 120<sup>o</sup>C sampai dengan 180<sup>o</sup>C.



**Gambar 4.12** Analisa Pengaruh Suhu Operasi terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound Eucheuma cottonii* pada Tekanan 5 MPa



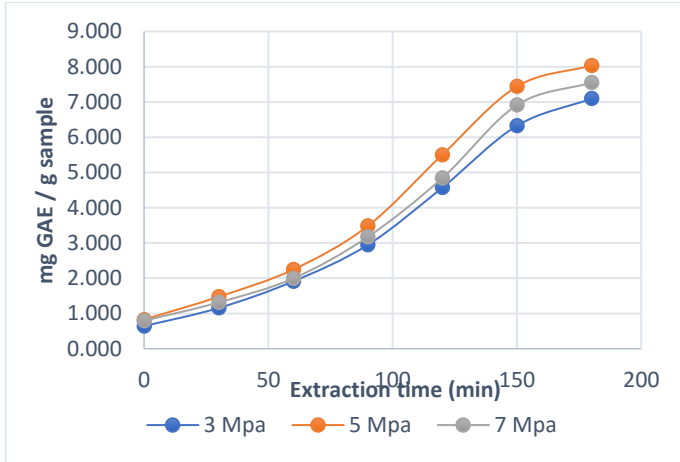
**Gambar 4.13** Analisa Pengaruh Suhu Operasi terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound Gracilaria sp.* pada Tekanan 7 MPa

Pada gambar 4.12 dan 4.13 menunjukkan pengaruh suhu terhadap kandungan *total phenolic compound* (TPC) untuk

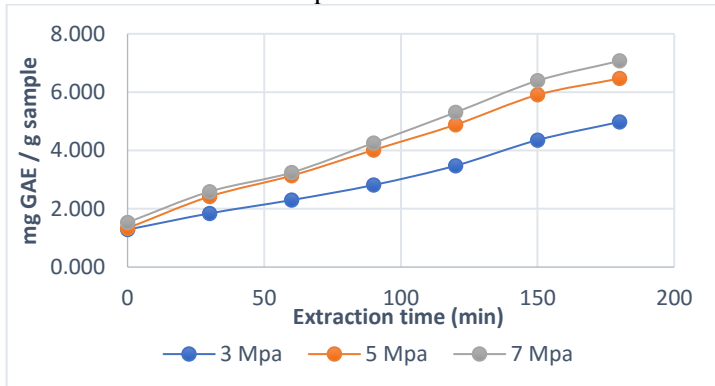
*Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp.* Dalam gambar diatas terlihat bahwa pada suhu 140°C, 160°C dan 180°C TPC yang terekstrak mengalami peningkatan lebih signifikan dibandingkan suhu 120°C. Dengan meningkatnya suhu, tetapan permisivitas air turun. Ini berarti kepolaran pelarut turun, sehingga fenol menjadi lebih larut dalam air. Semakin naik suhu operasi maka kandungan *total phenolic compound* dalam ekstrak juga semakin meningkat. Hal ini terjadi karena perubahan suhu yang semakin tinggi yang mempengaruhi kelarutan *phenolic compound* dalam air, sehingga *solvent (subcritical water)* mampu mengekstrak rumput laut secara optimal. *Solvent* yang digunakan merupakan *sub-critical water* yang memiliki sifat fisik tetap berbentuk liquid dalam rentang suhu 100°C sampai 374°C berada dalam kondisi bertekanan. *Subcritical water* ini memiliki dua sifat unik, sifat yang pertama adalah ion *product* yang tinggi pada temperatur yang dinaikkan sehingga air ini dapat bertindak sebagai katalis asam atau katalis basa. Sedangkan sifat lain dari *subcritical water* yaitu memiliki konstanta dielektrik yang rendah. Sehingga semakin tinggi suhu operasi maka semakin rendah konstanta dielektrik air sehingga mampu mendekati nilai konstanta dielektrik pelarut organik seperti etanol dan methanol (Adachi, 2009).

#### **IV.2.2.2 Pengaruh Tekanan Operasi Terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound***

Selain menganalisa pengaruh suhu terhadap kandungan karagenan, dalam penelitian ini juga akan membahas pengaruh tekanan terhadap kandungan karagenan. Pengaruh tekanan terhadap proses ekstraksi pada penelitian ini dipelajari pada suhu 120°C sampai dengan 180°C dengan variasi tekanan operasi sebesar 3, 5 dan 7 MPa.



**Gambar 4.14** Analisa Pengaruh Tekanan Operasi terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound Eucheuma cottonii* pada Suhu 140°C



**Gambar 4.15** Analisa Pengaruh Tekanan Operasi terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound Gracilaria sp* pada Suhu 140°C

Berdasarkan Gambar 4.14 dan 4.15, pengaruh tekanan operasi pada kandungan total fenol tidak begitu terlihat. Ini dimungkinkan karena kepolaran air tidak terlalu berpengaruh oleh tekanan. Sebagai contoh, pada suhu 100°C, kenaikan tekanan dari



10 MPa menjadi 20 MPa hanya menaikkan konstanta dielektrik dari 55,9 menjadi 56,2 (Ohmori, 2004 dalam Ratna, 2013). Meskipun sangat kecil, pada gambar 4.13 terlihat kecenderungan kenaikan kandungan total fenol seiring dengan kenaikan tekanan. Hal ini bisa terjadi karena keadaan tekanan yang mengalami kenaikan akan menyebabkan kenaikan densitas *solvent* (*subcritical water*) dan kenaikan densitas ini diikuti juga dengan naiknya *solubility* ekstrak dalam *solvent*. Sehingga kandungan *phenolic compound* yang terekstrak lebih banyak. Tekanan operasi disini tidak begitu berpengaruh terhadap hasil ekstrak yang diperoleh karena variabel tekanan yang diambil kurang besar perbedaannya.

Rangkuman hasil analisa pengaruh kondisi operasi terhadap konsentrasi *total phenolic compound* disajikan dalam Tabel 4.2.

**Tabel. 4.2** Pengaruh Kondisi Operasi Terhadap Kandungan *Total Phenolic Compound*

Jenis Rumput Laut	Tekanan Operasi (MPa)	Suhu Operasi (°C)	TPC (mg GAE/ g sample)
<i>Gracilaria sp.</i>	3	120	4.56
		140	4.98
		160	12.04
		180	24.74
<i>Eucheuma cottonii</i>		120	7.72
		140	7.09
		160	16.81
		180	22.27
<i>Gracilaria sp.</i>	5	120	5.28
		140	6.47
		160	13.52

		180	22.46
<i>Eucheuma cottonii</i>	7	120	5.34
		140	8.03
		160	12.66
		180	18.56
		180	18.56
<i>Gracilaria sp.</i>	7	120	2.85
		140	7.07
		160	11.06
		180	22.48
<i>Eucheuma cottonii</i>	7	120	6.12
		140	7.55
		160	11.52
		180	18.51

Dari tabel Tabel 4.2 menunjukkan bahwa kondisi optimum untuk mendapatkan *total phenolic compound* secara maksimal adalah pada suhu 180°C dan tekanan 3 MPa. Data menunjukkan pada suhu 180°C kandungan *total phenolic compound* lebih tinggi dibandingkan dengan dua variable suhu yang lain. Fenomena ini disebabkan pengaruh kenaikan suhu yang menyebabkan peningkatan solubilitas ekstrak, peningkatan solubilitas ini menyebabkan penurunan polaritas dari air sehingga mendekati polaritas pelarut organik seperti etanol dan methanol (Rangsriwong, 2007).

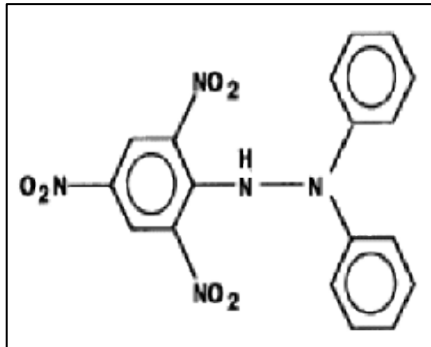
#### **IV.2.3 Pengaruh Kondisi Operasi Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan**

Aktivitas antioksidan dari beberapa senyawa alami telah dikenal beberapa tahun terakhir ini. Baru-baru ini, banyak jenis

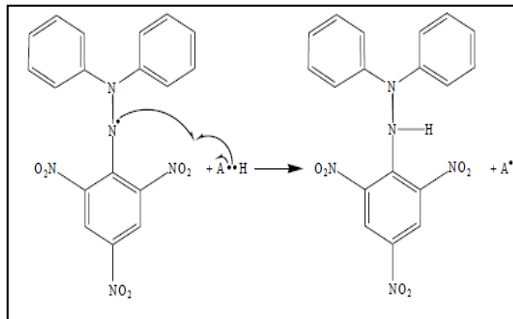
rumput laut yang dapat dianggap sebagai sumber inhibitor dari *reactive oxygen*. Rumput laut dapat digunakan sebagai makanan tambahan dan juga dapat memberikan perlindungan terhadap terjadinya oksidasi pada jaringan.

Penelitian ini juga membuktikan bahwa polifenol dari rumput laut memiliki aktivitas antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Antioksidan alami dari makanan dapat mencegah penuaan dan mencegah berbagai penyakit seperti kanker, jantung koroner, dan lainnya. Beberapa penelitian juga mengatakan bahwa rumput laut mengandung senyawa dengan antioksidan yang relatif tinggi. Rumput laut dengan kandungan lemak rendah tetapi mengandung vitamin dan senyawa *bioactive* seperti triterpenoid, *sulfated polysaccharides*, dan polifenol memiliki potensi sebagai antioksidan yang tidak dapat ditemukan pada tanaman darat lainnya.

Efisiensi Antioksidan yang terkandung dalam Alga *Eucheuma cottoni* dan *Gracilaria sp* juga dipengaruhi oleh kondisi operasi ekstraksi *hydrothermal* analisa menggunakan metode DPPH. Metode ini didasarkan pada pengukuran spektrofotometri perubahan konsentrasi DPPH yang dihasilkan dari reaksi dengan antioksidan. DPPH assay dapat mengukur kemampuan ekstrak untuk menyumbang hydrogen kepada zat radikal (Y.Y. Lim, 2006). DPPH Assay ini dapat diandalkan dan dilakukan berulang-ulang karena dalam semua produk variasi nilainya rendah (Eugenio Jose, 2011). Metode ini sederhana, cepat, dan mudah untuk penapisan aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa, selain itu metode ini terbukti akurat, *reliable* dan praktis (Kikuzaki, *et al.*,2002). Pada analisa efisiensi antioksidan ini, DPPH bertindak sebagai radikal bebas. Struktur molekul DPPH dan reaksi yang terjadi antara DPPH dengan antioksidan (ekstrak) berturut-turut dapat dilihat pada Gambar 4.16 dan 4.17.



**Gambar 4.16** Struktur Molekul DPPH

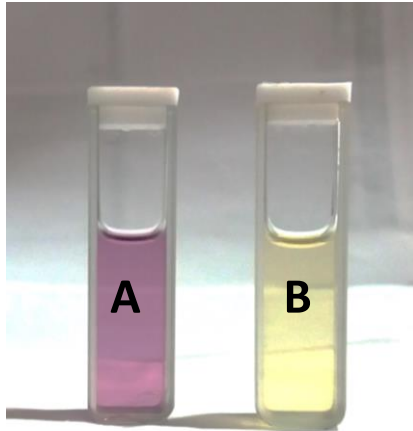


**Gambar 4.17** Reaksi DPPH dengan Antioksidan

Reaksi yang terjadi antara DPPH dengan antioksidan ini dapat dilihat dari perubahan warna DPPH saat ditetaskan dengan ekstrak, dimana semula warna DPPH adalah ungu, berubah menjadi kuning lama-kelamaan. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas (Stevi G.,2012). DPPH yang digunakan disini mempunyai konsentrasi 25 ppm. Gambar 4.18 menunjukkan larutan DPPH sebelum dan sesudah ditambahkan ekstrak.

Beberapa senyawa dari *Eucheuma Cottonnii* dan *Gracilaria sp* yang berpengaruh sebagai antioksidan, antara lain

flavonoid, karoten, klorofil, dan Senyawa turunan benzena (Suryaningrum et al., 2006).

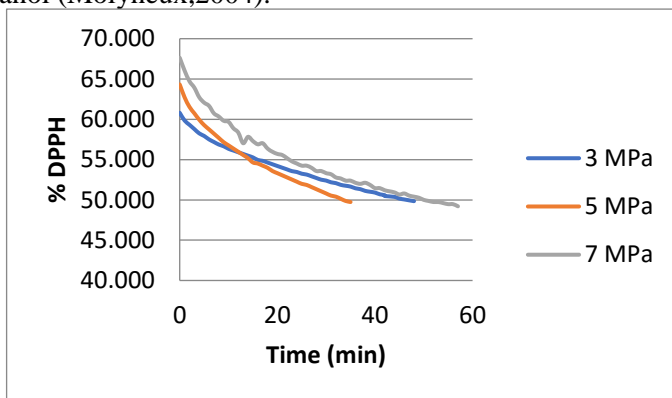


**Gambar 4.18** Larutan DPPH sebelum ditambahkan ekstrak (A) dan sesudah ditambahkan ekstrak (B)

Penambahan ekstrak ini mempengaruhi pembacaan absorbansi larutan, dimana akan terlihat absorbansi ekstrak mengalami penurunan seiring berjalannya waktu hingga mencapai suatu keadaan konstan.

Karakteristik antioksidan yang diukur dalam penelitian ini adalah *scavenging activity*. *Scavenging activity* menunjukkan kemampuan antioksidan dalam rumput laut untuk menurunkan konsentrasi radikal bebas murni DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Prinsip dari uji ini adalah adanya donasi atom hidrogen dari substansi yang diujikan kepada radikal DPPH menjadi senyawa non-radikal difenilpikrihidrazin yang akan ditunjukkan oleh perubahan warna (Molyneux, 2004). Perubahan warna yang akan terjadi adalah perubahan dari larutan yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning (Pauly, 2001 dalam Rahayu dkk, 2009). Dengan demikian aktivitas penangkal

radikal bebas dapat dihitung dari peluruhan radikal DPPH. Intensitas perubahan warna ini kemudian diukur menggunakan spectrum uv-vis dengan panjang gelombang 516 nm pada larutan metanol (Molyneux,2004).



**Gambar 4.19** Grafik Penurunan % DPPH Analisa Antioksidan Alga *Eucheuma cottoni* pada suhu 140° C

Gambar 4.19 menunjukkan penurunan % DPPH pada pengukuran aktifitas antioksidan. Pada gambar tersebut jelas terlihat bahwa semakin lama waktu inkubasi antara rumput laut dan larutan DPPH sebagai radikal bebas, maka semakin banyak pula prosentase DPPH yang berkurang sebagai radikal bebas. Hal ini dikarenakan dengan seiringnya waktu rumput laut dapat bertindak sebagai antioksidan dimana rumput laut mampu mereduksi senyawa DPPH menjadi senyawa non-radikal. Hal ini dapat dibuktikan ketika konsentrasi DPPH mencapai 50 % dari konsentrasi DPPH awal.

Seperti yang telah dijelaskan pada literatur, bahwa rumput laut jenis *Eucheuma cottonii* memiliki kandungan fitokimia seperti vitamin C, flavonoid, tannin, riboflavin (Suptijah,2003). Sedangkan rumput laut jenis *Gracilaria sp* dinyatakan memiliki sumber antioksidan seperti karotenoid, pigmen, flavonoid, terpena, steroid, tannin, alkaloid, fenol dan glikosida dalam jumlah yang melimpah (Sreejamole, 2013). Tabel

4.3 berikut merupakan rangkuman hasil analisa efisiensi antioksidan pada berbagai kondisi operasi ekstraksi

**Tabel 4.3** Hasil Analisa Efisiensi Antioksidan

<b>Jenis Rumput Laut</b>	<b>Suhu (°C)</b>	<b>Tekanan (Mpa)</b>	<b>AE ( Min<sup>-1</sup>)</b>	
<i>Eucheuma cottoni</i>	120	3	0.0016	
	140		0.0181	
	160		0.0123	
	180		0.0636	
<i>Gracilaria sp</i>	120		5	0.004
	140			0.018
	160			0.08
	180			0.0735
<i>Eucheuma cottoni</i>	120	7		0.0018
	140			0.0186
	160			0.049
	180			0.8266
<i>Gracilaria sp</i>	120		7	0.0056
	140			0.0193
	160			0.2108
	180			0.2984
<i>Eucheuma cottoni</i>	120	7		0.005
	140			0.026
	160			0.1709
	180			4.9636
<i>Gracilaria</i>	120		7	0.0073

<i>sp</i>	140		0.023
	160		1.2323
	180		1.404

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa efisiensi antioksidan (AE) ekstrak terbesar didapatkan pada saat kondisi operasi ekstraksi suhu 180 °C dan Tekanan 7 MPa. Efisiensi antioksidan ini bergantung pada konsentrasi antioksidan yang terkandung di dalam ekstrak dan waktu yang dibutuhkan ekstrak untuk mengurangi konsentrasi DPPH per satuan menit. Semakin kecil konsentrasi antioksidan yang dibutuhkan untuk bereaksi dengan DPPH, semakin besar harga AE yang didapatkan. Semakin cepat waktu yang dibutuhkan oleh antioksidan untuk bereaksi dengan DPPH, semakin besar pula harga AE yang diperoleh. Semakin besar harga AE suatu ekstrak, maka semakin besar pula kemampuan ekstrak tersebut untuk melawan radikal bebas.

Tabel 4.3 juga menunjukkan bahwa besarnya kandungan antioksidan dalam rumput laut tidak berkorelasi positif dengan kandungan total fenol. Hal ini dapat terjadi dikarenakan tidak semua senyawa fenol yang diekstrak dari rumput laut merupakan senyawa fenol yang dapat berfungsi sebagai antioksidan. Senyawa fenol juga dapat berupa lignin yang berfungsi sebagai bahan pembentuk dinding sel (Maulida,2007).

Lim et.al.(2002) dalam Maulida. R (2007) meneliti hubungan kandungan fenol dan aktivitas antioksidan pada rumput laut *Sargasum siliquastrum*. Dari penelitian itu juga diketahui bahwa kandungan total fenol pada rumput laut tersebut tidak berkorelasi positif dengan antioksidan. Hal itu disebabkan adanya lignin yang ikut terekstrak dapat mempengaruhi nilai kandungan total fenol serta aktivitas antioksidan dari rumput laut tersebut.



*Halaman ini sengaja dikosongkan*

# BAB V

## KESIMPULAN DAN SARAN

### V.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Senyawa fitokimia dari alga *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp.* berupa  $\beta$ -karoten dan asam linoleat dapat terekstrak dengan CO<sub>2</sub> superkritis sedangkan karagenan, dan total fenol dapat terekstrak dengan air subkritis.
2. Kadar  $\beta$ -karoten dan asam linoleat pada alga *Eucheuma cottonii* berturut-turut adalah 10,19 dan 0,27 mg/mg sampel sedangkan pada *Gracilaria sp.*, kadar  $\beta$ -karoten dan asam linoleat berturut-turut adalah 10,58 dan 0,26 mg/mg sampel.
3. Kenaikan suhu operasi pada proses ekstraksi *hydrothermal* (120°C-180°C) menyebabkan peningkatan *total phenolic compound* (TPC) dan *yield* karagenan dalam ekstrak. Sama halnya dengan kenaikan tekanan pada proses ekstraksi *hydrothermal* (3 sampai 7 MPa) menyebabkan kecenderungan peningkatan *total phenolic compound* (TPC) dan *yield* karagenan dalam ekstrak. Dengan *yield* karagenan maksimum yang didapat sebesar 65,54 % dan kandungan TPC maksimum sebesar 24,74 mg GAE/g sampel.

### IV.2 Saran

Dari jalannya percobaan, dapat disarankan untuk peneliti selanjutnya:

1. Melakukan penelitian lanjutan mengenai pengaruh polaritas terhadap zat-zat yang terekstrak pada ekstraksi dengan CO<sub>2</sub> superkritis dan etanol sebagai *co-solvent* dan air subkritis.

2. Melakukan penelitian mengenai pengaruh *flowrate* pada ekstraksi *semi-batch* terhadap *total phenolic compound* dan *yield* karagenan.
3. Melakukan analisa fitokimia secara spesifik.
4. Ekstrak yang diperoleh secepatnya dianalisa, sehingga kandungan dalam sampel tidak rusak sebelum dianalisa.

## DAFTAR NOTASI

Notasi	Keterangan	Satuan
P	Tekanan	MPa
T	Temperatur	°C
Flow	Laju alir	ml/menit
% DPPH <sub>rem</sub>	% Absorbansi DPPH	%
[DPPH] <sub>rem</sub>	Efisiensi Antioksidan	-
[DPPH] <sub>t=0</sub>	Absorbansi ekstrak pada waktu tertentu	-
AE	Efisiensi Antioksidan	Menit <sup>-1</sup>
EC <sub>50</sub>	Konsentrasi ekstrak yang menyebabkan penurunan 50% absorbansi DPPH awal	-
t <sub>EC50</sub>	Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai keadaan steady pada konsentrasi EC <sub>50</sub>	menit

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## DAFTAR PUSTAKA

- Adachi, Shuji. 2009. *Properties of subcritical water and its utilization*. Division of Food Science and Biotechnology, Graduate School of Agriculture, Kyoto University.
- Aminatul B Ikrom dan Aunurokhim. 2013. *Kandungan Klorofil-a dan Karaginan *Eucheuma cottonii* yang Ditanam pada Kedalaman Berbeda di Desa Palasa, Pulau Poteran*. JURNAL TEKNIK POMITS Vol. 2, No. 1, (2013) ISSN: 2337-3539 (2301-9271 Print)
- Andarini Diharmi,at,al. 2013. *Karakteristik Karagenan Hasil Isolasi *Eucheuma spinosum* (Alga merah) dari Perairan Sumenep Madura*. Jurnal Perikanan dan Kelautan 16,1 (2011) :117-124
- Anggadireja,T.Jana. 2009. *Rumput laut:Pembudidayaan,Pengolahan, dan Pemasaran Komoditas Perikanan Potensial*. Depok: Penebar Swadaya
- Arie,W.,&Ibrahim. 2014.*Fraksinasi Minyak Nilam (*Pogostemon cablin Benth*) menggunakan Kabondioksida Superkritis*. Skripsi Sarjana di Jurusan Teknik Kimia , Institut Sepuluh Nopember . Surabaya : tidak diterbitkan.
- Aslan,L. 1991. *Budidaya rumput Laut*. Yogyakarta:Penerbit Kanisius
- Atmadja,W.S. 1996. *Pengenalan Jenis Algae Merah. Didalam: Pengenalan Jenis-Jenis Rumput Laut.Indonesia*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi,LIPI.
- Azis, T., Febrizky, S., Mario, A. D. 2014. *Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yieldalkaloid Daun Salam India (*Murayaa koenigii*)*.Palembang:Jurusan Teknik Kimia, Universitas Sriwijaya
- Bronland,T. 1976.*Carotenoid in Red Algae*.Phytochemistry.
- Burtin,P. 2003. *Nutritional Value of Seaweed* .Electron.J.Environ.Agric.Food Chem.

- Doty M.S. 1987. *Euचेuma Farming for Carragenan-sea Grand Advisory Report*. New Jersey: Prentice Hall.
- Davarnejad, R., Kassim, K. M., Zainal, A., & Sata, S. A., 2008. *Supercritical Fluid Extraction of  $\beta$ -carotene from Crude Palm Oil Using CO<sub>2</sub>*. Journal of Food Engineering.
- Drajat Suseno dan Juwita. 2015. *Ekstraksi hidrothermal dan analisa aktivitas antioksidan senyawa fitokimia dari Euचेuma cottonii dan Gracilaria sp* Surabaya: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Duygu (Yalcin) Dilek. 2012. *Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for identification of Chlorella vulgaris Beijerinck 1890 and Scenedesmus obliquus (Turpin) Kützing 1833*. African Journal of Biotechnology Vol. 11(16), pp. 3817-3824
- Dvoyashkin, M. 2014. *Introduction to Supercritical Fluids*. [www.scribd.com/doc/203166806/dvoyashkin](http://www.scribd.com/doc/203166806/dvoyashkin). Diakses tanggal: 26 Februari 2017.
- Ega, La., Cynthia Gracia Cristina Lopulalan, dan Firat Meiyas. 2016. *Kajian Mutu Karaginan Rumput Laut Euचेuma cottonii Berdasarkan Sifat Fisiko-Kimia pada Tingkat Konsentrasi Kalium Hidroksida (KOH) yang Berbeda*. Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan 5 (2)
- Fitton, H. 2005. *Marine Algae and Health: A Riview of The Scientific and Historical Literature*.
- Geankoplis, C.J. 2003. *Transport Process and Separation Process Principle, Fourth Edition*. New Jersey: Pearson Education, Inc.
- Glicksman M. 1983. *Food Hydrocolloids*. CRC Press, Boca raton, Florida, 2, 90-92.
- Grandinson, A. S., & Lewis, M.J. 1996. *Separation process Industry The Food And Biotechnology Industries*. Basel: Technomic publishing Companies, Inc.

- Gross, J. 1991. Pigments in vegetables. Chlorophylls and carotenoids. An avi Book. Van Nostrand Reinhold. New York.
- Hamuel, James Doughari. 2012. *Phytochemicals: Extraction Methods, Basic Structure and Mode of Action as Potential Chemotherapeutic Agents*. Nigeria: Department of Microbiology, School of Pure and Applied Science, Federal University of Technology.
- Handayani, T., Sutarno., Setyawan, A. 2004. *Analisis Komposisi Nutrisi Rumput Laut sargassum Crassifolium I.* Surakarta: Jurusan Biologi Fakultas FMIPA UNS
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Institut Teknologi Bandung.
- Hernanto, Angga Dwi ., Sri Rejeki., Restiana Wisnu Ariyati. 2015. *Pertumbuhan Budidaya Rumput Laut (Eucheuma cottoni Dan Gracilaria sp.) dengan Metode Long Line di Perairan Pantai Bulu Jepara*. Journal of Aquaculture Management and Technology Volume 4, Nomor 2, Tahun 2015, Halaman 60-66
- Hudha Muhammad istnaeny, et. al. 2012. *Ekstraksi Karaginan Dari Rumput Laut Eucheuma Spinosum Dengan Variasi Suhu, Pelarut, dan waktu operasi*. Berkala Ilmiah Teknik Kimia Vol 1, N0 1
- Jensen, A. 1993. *Present and future Needs for Alga and Alga Products*. Hydrobiology.
- Julyasih, Sri. 2009. *Aktivitas Antioksidan Beberapa Jenis Rumput Laut (seaweeds) Komersial di Bali*. Surabaya: Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur.
- Kadi, A., Atmaja, w.S, 1998. Rumput Laut (algae), jenis Reproduksi Budidaya dan Pasca Panen. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi .LIPI
- Kasim, S.R. 2004. *Pengaruh Perbedaan Konsentrasi dan Lama Waktu pemberian Rumput laut E.Cottonii Terhadap*



- Kadar Lipid Serum darah Tikus*. Malang : Universitas Brawijaya.
- Kirk, R.E., & Othmer, D.F., 1991. *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol.2. 4<sup>th</sup> Edition. New York: John Wiley & Sons, Inc
- Maulida R. 2007. Aktivitas Antioksidan Rumpul Laut Caulerpa lentillifera. SKRIPSI. Universitas Institut Pertanian Bogor.
- McCabe, W. L., Smith, J. C., & Harriot, P., 2005. *Unit Operations of Chemical Engineering, Seventh Edition*. New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- M. Khajenoori, A. Haghghi Asl, and F. Hormozi. 2009. "Proposed Models for Subcritical Water Extraction of Essential Oils", Chinese Journal of Chemical Engineering, Vol.17, No. 3, 359-365.
- Mockel, H.J., Welter, G., and Melzer, H. 1987. *Correlation between reversed-phased retention and solute molecular surface type and area. I. Theoretical outlines and retention of various hydrocarbon classes*. J. Chromatogr. A, 388, 255-266
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology* Vol. 26 (2): 211-219.
- Nazla dan Nadhifah, Farah. 2016. *Ekstraksi Senyawa Fitokimia Dari Alga Eucheuma Cottonii Dan Glacilaria sp Menggunakan CO<sub>2</sub> Superkritis Dengan Ethanol Sebagai Entrainer*. Suranbaya: Jurusan Teknik Kimia Fakultas Teknologi Industri Institut Teknologi Sepuluh Nopember
- Norziah, M. H., dan Chuing, C. Y. 2000. *Nutritional Composition of Edible Seaweed Glacilaria Changgi*. Food Chemistry.

- Palmer, M. V., & Ting, S. S. T., 1995. *Application for Supercritical Fluid Technology in Food Processing*. Food Chemistry
- Peranginangin,R.,Sinurat,E.,Darmawan,M. 2011. *Memproduksi karaginan dari Rumput laut*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Perry, R. H., & Green, D. W., 1997. *Perry's Chemical Engineers Handbook, Seventh Edition*. New York: New York: McGraw-Hill Companies, Inc.
- Rahayu, D. S., Kusriani, D., Fachriyah, E. 2009. Penentuan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Etanol Daun Ketapang (*Terminalia catappa L*) dengan Metode 1,1-Difenil-2Pikrilhidrazil (DPPH). Seminar Tugas Akhir S-1. Semarang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro.[https://eprints.undip.ac.id/2828/1/JURNAL\\_DWI\\_SRI\\_RAHAJU.pdf](https://eprints.undip.ac.id/2828/1/JURNAL_DWI_SRI_RAHAJU.pdf) (4 Juni 2017).
- Rangsriwong, et. al. 2007. *Subcritical Water Extraction of Polyphenolic Compounds from Terminalia chebula Fruits*. Thailand. Chiang Mai J. Sci. 35(1):103-108.
- Ratna, F.S, et. al. 2013. Ekstraksi Batang *Physalis Angulata* dengan Air Subkritik. Bandung : Universitas Katholik Parahyangan
- Rinawati,M. 2012. *Peningkatan Mutu produksi Minyak Nilam Melalui Ekstraksi menggunakan CO<sub>2</sub> Superkritis*. Skripsi sarjana di Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Progam studi Kimia, Universirtas Indonesia, Depok : tidak diterbitkan.
- Rogalinski,T.,Hermann,S,. and Brunner,G. 2008. *Production of Amino Acid from Bovine Cerum Albumin by Continous Subcritical Water hydrolysis*.J.Supercrit.Fluids
- Saniha Adini,et.al. 2015. *Produksi Bioetanol Dari Rumput Laut dan Limbah Agar Gracilaria sp. dengan Metode*

*Sakarifikasi Yang Berbeda*. BIOMA, ISSN: 1410-8801  
Vol. 16, No. 2, Hal. 65 – 75

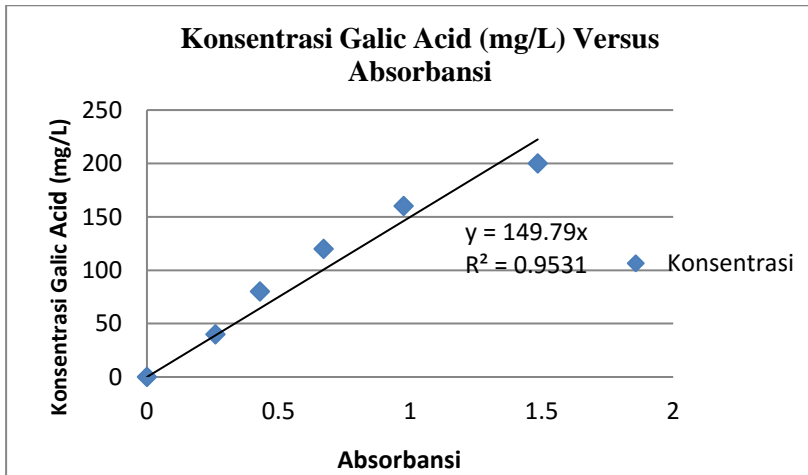
- Schmid G. 2004. *Nanoparticles: Theory to application*. Weinheim: Willey-VCH.
- Singh, P.P and Saldaña, M.D.A. 2011. *Subcritical water extraction of phenolic compounds from potato peel*. Journal Food Research International 44, p 2452–2458.
- Sreejamole, K.L., & Greeshma, P.M. 2013. *Antioxidant and Brine Shrimp Cytotoxic Activities of Ethanolic Extract of Red Algae Gracilaria Corticata*. Indian Journal of Natural Products and Resources.
- Stanley, N.F. 1987. *Carrageenan*. In D. J. McHugh, *Production and utilization of products from commercial seaweeds*. Australia: FAO Fisheries Technical Papers.
- Stevi, G.D., Dewa, G.K., Vanda, S.K. 2012. *Aktivitas antioksidan Ekstrak Fenolik dari Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.)*. Journal MIPA Unsrat online 1 (1) 11-15.
- Suparmi dan Achmad Sahri. 2009. *Mengenal Potensi Rumput Laut: Kajian Pemanfaatan Sumber Daya Rumput Laut Dari Aspek Industri dan Kesehatan*. Semarang
- Suptijah, P. 2002. “Rumput Laut: Prospek dan Tantangannya”. Tersedia di <http://rudycr.tripod.com/sem2-012/.html>. Diakses tanggal 8 Januari 2017.
- Suryaningrum Dwi, Thamrin Wikanta, Hendy Kristiana. 2006. *Uji Aktivitas Senyawa Antioksidan dari Rumput Laut Halymenia harveyana dan Eucheuma cottonii*. Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan Vol. 1 No. 1
- Taylor, L.T., 1996. *Supercritical Fluid extraction Techniques in Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons, Inc.
- Toro, et al. 2014. *Intergrated Supercritical Fluid Extractian and Sub-Critical Water Hydrolysis For The Recovery Of Bioactive Compounds From Pressed palm Fiber*. J.Of Supercritical Fluids 93, 42-48

- Tuvikene, Rando et. al. 2016. Extraction and quantification of hybrid carrageenans from the biomass of the red algae *Furcellaria lumbricalis* and *Coccotylus truncates*. Proc. Estonian Acad. Sci. Chem., 55, 1, 40–53.
- Uswatun, R. 2011. *Pemanfaatan Rumput Laut (Glacilaria Sp ) dalam Meningkatkan Kandungan Serat Pangan pada sponge Cake*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Vipul, D Prajawati, et al. 2014. *Carragenan A: Natural Seaweed Polysaccharide and Its Application*. Carbohydrate polymer 105, 97-114
- Webber, Vanessa., Cavalho, S.M., Ogliari, P.J., Hayashi, L., & Barreto, P.L. 2012. Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. *Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 32(4), 812-818.
- Wisnu, R., Rachawati, D. 2007. *Analisa Komposisi Nutrisi Rumput Laut eucheuma Cottno di Pulau karimun Jawa dengan Proses Pengeringan Berbeda*. Universitas Diponegoro, Semarang
- Yashinta, L dan LD, Rachmawati. 2009. *Optimasi Proses Ekstraksi Pada Pembuatan Karaginan Rumput Laut Jenis Eucheuma Cottonii untuk mencapai foodgrade*. J. Teknik Kimia Undip 3 (1): 7 – 15

*Halaman ini sengaja dikosongkan*

## APPENDIKS

### 1. Perhitungan Total Phenolic Compound (TPC) Dalam Ekstrak



Dari kalibrasi konsentrasi *galic acid* dengan menghubungkan plot antara absorbansi dengan konsentrasi *galic acid* didapatkan persamaan regresi linier :  $y = 149.79x$  pada wavelenght : 750 nm

Kemudian melakukan analisa absorbansi sampel ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi *hydrothermal* menggunakan spektrofomoter UV-Vis dan melakukan perhitungan *Total phenolic compound* sebagai *galic acid* ekivalen (GAE) :

Contoh perhitungan :

Ekstrak sampel *Gracilaria sp* yang diperoleh pada suhu operasi  $T = 120^{\circ}\text{C}$  dan tekanan operasi  $P = 3 \text{ MPa}$  secara semi batch, dari pengamatan absorbansi dengan spektrofotometer diperoleh nilai absorbansi ekstrak yang telah dilarutkan dalam larutan etanol terlebih dahulu ( 2 ml ekstrak ditambahkan dengan 6 ml etanol).

- Absorbansi (x) ketika waktu ekstraksi 0 menit ( $t_0$ ) = 0,202  
 $C_1 = 149,79 \times \text{absorbansi (x)}$

$$= 149,79 \times 0,202$$

$$= 30,252 \text{ mg GAE/L}$$

Kemudian menghitung faktor pengencerannya :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$30,252 \text{ mg GAE/L} \times 8 \text{ ml} = C_2 \times 2 \text{ ml}$$

$$C_2 = \frac{30,252 \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times 8 \text{ ml}}{2 \text{ ml}}$$

$$C_2 = 121,030 \text{ mg GAE/L}$$

Kemudian mengkonversi satuan konsentrasi dari mg GAE/L menjadi mg GAE/g sampel :

- $C_2 = 121,030 \text{ mg GAE/L}$
- Volume ekstrak yang diperoleh = 30 ml
- Massa starting material = 1 gram

$$\text{TPC}_{30} = \frac{121,030 \text{ mg GAE} \times \frac{30}{2} \text{ mL}}{1 \text{ g} \times 1000 \text{ mL}}$$

$$\text{TPC}_{30} = 1,811 \text{ mg GAE/g sampel}$$

- Absorbansi (x) ketika waktu ekstraksi 0 menit ( $t_1$ ) = 0,062  
Dengan cara perhitungan yang sama didapatkan konsentrasi phenolic compound ( $\text{TPC}_{60}$ ) sebesar 0,557 mg GAE/g sampel
- Absorbansi (x) ketika waktu ekstraksi 60 menit ( $t_2$ ) = 0,069  
Dengan cara perhitungan yang sama didapatkan konsentrasi phenolic compound ( $\text{TPC}_{60}$ ) sebesar 0,62 mg GAE/g sampel
- Absorbansi (x) ketika waktu ekstraksi 90 menit ( $t_3$ ) = 0,037  
Dengan cara perhitungan yang sama didapatkan konsentrasi phenolic compound ( $\text{TPC}_{90}$ ) 0,331 mg GAE/g sampel
- Absorbansi (x) ketika waktu ekstraksi 120 menit ( $t_4$ ) = 0,066

Dengan cara perhitungan yang sama didapatkan konsentrasi phenolic compound (TPC<sub>120</sub>) 0,591 mg TAE/g sampel

- Absorbansi (x) ketika waktu ekstraksi 150 menit (t<sub>5</sub>) = 0,049

Dengan cara perhitungan yang sama didapatkan konsentrasi phenolic compound (TPC<sub>150</sub>) 0,439 mg GAE/g sampel

- Absorbansi (x) ketika waktu ekstraksi 180 menit (t<sub>6</sub>) = 0,047

Dengan cara perhitungan yang sama didapatkan konsentrasi phenolic compound (TPC<sub>150</sub>) 0,213 mg GAE/g sampel

Kemudian menghitung TPC overall dengan menambahkan TPC tiap satuan waktu :

$$\begin{aligned} \text{TPC overall} &= \text{TPC}_0 + \text{TPC}_{30} + \text{TPC}_{60} + \text{TPC}_{90} + \\ &\quad \text{TPC}_{120} + \text{TPC}_{150} + \text{TPC}_{180} \\ &= 1,811 + 0,557 + 0,620 + 0,331 + 0,591 \\ &\quad + 0,439 + 0,213 \text{ mg GAE/g sampel} \\ &= 4,562 \text{ mg GAE/g sampel} \end{aligned}$$

## **2. Perhitungan Karagenan Dalam Ekstrak**

Perhitungan *yield* karagenan dilakukan dengan cara menimbang berat karagenan yang berbentuk solid yang terdapat pada cawan penguap setelah dipanaskan dalam oven selama 24 jam pada suhu 60 °C. Dimana dalam cawan penguap sebelumnya berisi 5 ml ekstrak ditambahkan 10 ml etanol untuk mengendapkan karagenan. Setelah proses pemanasan akan dihasilkan bubuk karagenan.

### **Contoh perhitungan :**

Ekstrak sampel yang diperoleh pada suhu operasi T = 180°C dan tekanan operasi 7 MPa secara semi batch pada *Eucheuma cottonii*. Dari hasil penimbangan pada waktu ekstraksi 30 menit didapatkan:

- Massa Karagenan = 0,0516 gram



- Volume Ekstrak yang diperoleh = 30 ml

Sehingga didapatkan:

- Massa karagenan dalam ekstrak =  $0,0516 \text{ gram} \times \frac{30 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} = 0,3096 \text{ gram}$
- % *Yield* karagenan =  $\frac{\text{massa karagenan yang terekstrak}}{\text{massa rumput laut kering}} \times 100 \%$   
 $= \frac{0,3096 \text{ gram}}{0,999 \text{ gram}} \times 100 \%$   
 $= 30,96 \%$

Sedangkan untuk menghitung % *recovery* dari ekstraksi hidrotehmal dan ekstraksi hidrodistilasi dapat dihitung dengan menggunakan cara sebagai berikut:

- % *Recovery* =  $\frac{\text{yield karagenan dari ekstraksi hidrothermal}}{\text{yield karagenan dari ekstraksi hidrodistilasi}} \times 100\%$

Ekstrak sampel yang diperoleh pada suhu operasi  $T = 180^\circ\text{C}$  dan tekanan operasi 7 MPa secara semi batch pada *Eucheuma cottonii*. Dari hasil penimbangan pada waktu esktraksi 30 menit didapatkan:

- Yield karagenan dari esktraksi hydrothermal = 30,96 %
- Yield karagenan dari ekstraksi hidrodistilasi = 64,45 %

Sehinnga didapatkan:

- % *Recovery* =  $\frac{30,96}{64,45} \times 100\%$   
 $= 16,19 \%$

### **3. Perhitungan Efisiensi Antioksidan**

Perhitungan efisiensi antioksidan ini menggunakan metode DPPH assay. Contoh perhitungan efisiensi antioksidan pada kondisi operasi  $P=5 \text{ MPa}$  dan  $T= 160^\circ\text{C}$  pada *Gracilaria sp.*

Dari hasil pembacaan absorbansi campuran larutan DPPH dan ekstrak, dimana volume larutan DPPH sebesar  $V_{\text{DPPH}} = 2 \text{ mL}$  dan ekstrak sebesar  $V_x = 1000 \mu\text{L}$ , diperoleh nilai  $t_{\text{EC50}}$  saat %DPPH remaining mencapai 50% sebesar 14,333 menit. Persamaan %DPPH remaining adalah sebagai berikut,

$$\%DPPH_{rem} = 100 \times \frac{[DPPH]_{rem}}{[DPPH]_{t=0}}$$

Dimana  $[DPPH]_{rem}$  adalah absorbansi ekstrak pada waktu tertentu, dan  $[DPPH]_{t=0}$  adalah absorbansi DPPH mula-mula. Setelah itu, nilai  $t_{EC50}$  disubstitusikan ke persamaan AE (*Antiradical Efficiency*), dimana persamaan AE adalah sebagai berikut,

$$AE = \frac{1}{EC_{50} \times t_{EC50}}$$

Dimana  $EC_{50}$  adalah konsentrasi ekstrak yang menyebabkan penurunan 50% absorbansi DPPH awal, dan  $t_{EC50}$  adalah waktu yang dibutuhkan untuk mencapai keadaan steady pada konsentrasi  $EC_{50}$ .  $EC_{50}$  dicari dengan menggunakan trial seberapa banyak antioksidan yang dapat menurunkan nilai absorbansi kontrol hingga menjadi setengahnya.

Trial I :

- Absorbansi kontrol = 0,828
- $V_{DPPH}$  = 2ml
- $V_x$  = 500  $\mu$ L
- Absorbansi akhir = 0,645

Trial II :

- Absorbansi kontrol = 0,828
- $V_{DPPH}$  = 2ml
- $V_x$  = 800  $\mu$ L
- Absorbansi akhir = 0,555

Trial III :

- Absorbansi kontrol = 0,828
- $V_{DPPH}$  = 2ml
- $V_x$  = 1000  $\mu$ L
- Absorbansi akhir = 0,527

Trial IV :

- Absorbansi kontrol = 0,828
- $V_{DPPH}$  = 2ml
- $V_x$  = 1500  $\mu$ L

- Absorbansi akhir = 0,39

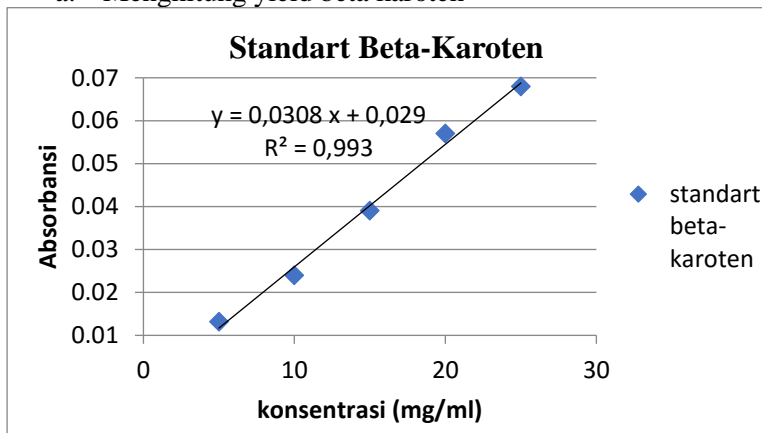
Setelah melakukan beberapa trial dan belum berhasil menemukan IC<sub>50</sub> yang pas, maka dilakukan interpolasi dari data – data yang telah ada. Hasil interpolasi data tersebut didapatkan EC<sub>50</sub> sebesar 1,4 ml/ml

- Maka, nilai AE =  $1/(EC_{50} \times t_{EC50})$   
 $= 1/(1,4 \times 14,333)$   
 $= 0,049 \text{ min}^{-1}$

### 3. Perhitungan Yield

Data percobaan yang digunakan adalah *Gracilaria sp* pada tekanan 25 Mpa, suhu 60°C, flowrate CO<sub>2</sub> 15ml/min dan flowrate ethanol 0,25 ml/min pada menit ke 60-90.

a. Menghitung yield beta karoten



Data yang diperoleh :

- Absorbansi : 0,018
- Volume : 30 ml
- Massa Sampel : 19727 mg

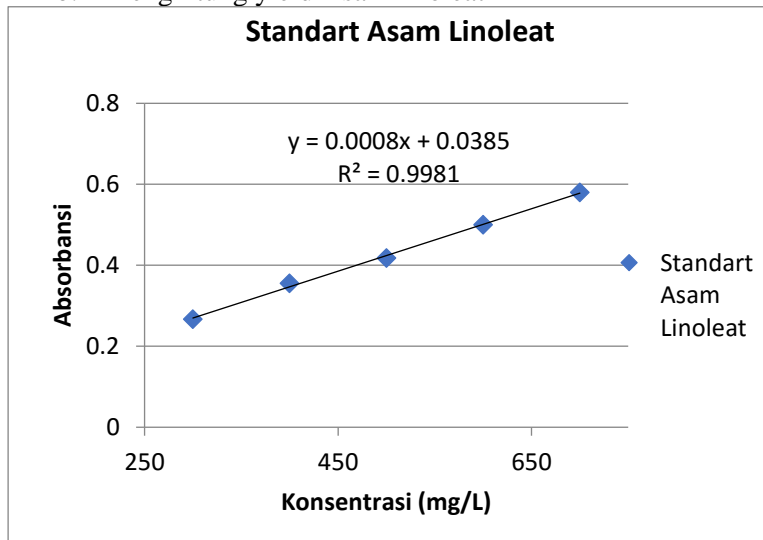
$$\begin{aligned} \text{Konsentrasi beta karoten} &= \text{Absorbansi} \times \text{slope kurva standar} \\ &= (0,018 \times 0,0308) + 0,029 \\ &= 0,0295 \text{ mg/ml} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Massa beta karoten dalam ekstrak} &= \text{konsentrasi beta} \\
 \text{karoten} \times \text{Volume} & \\
 &= 0,0295 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 30 \text{ ml} \\
 &= 0,8866 \text{ mg}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Kadar beta karoten} &= \frac{\text{massa beta karoten dalam ekstrak}}{\text{massa starting material}} \times 100 \\
 \% & \\
 &= \frac{0,8866 \text{ mg}}{19727 \text{ mg}} \\
 &= 4,494 \frac{\mu\text{g}}{\text{gr sampel}}
 \end{aligned}$$

Untuk mendapatkan kadar keseluruhan beta karoten maka, perlu dihitung kadar dari masing – masing ekstrak hingga menit ke-180 sesuai dengan perhitungan diatas, kemudian dijumlahkan. Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan , didapatkan kadar beta-karoten dalam *Gracilaria sp* adalah 0,021 %

b. Menghitung yield Asam linoleat



Data yang diperoleh :

- Absorbansi : 0,1391
- Volume : 30 ml
- Massa Sampel : 19727 mg

$$\begin{aligned}\text{Konsentrasi asam linoleat} &= \text{Absorbansi} \times \text{slope kurva standar} \\ &= (0,1391 \times 0,0008) + 0,0385 \\ &= 0,0386 \text{ mg/ml}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Massa asam linoleat dalam ekstrak} &= \text{konsentrasi} \times \text{beta} \\ &\text{karoten} \times \text{Volume} \\ &= 0,0386 \frac{\text{mg}}{\text{ml}} \times 30 \text{ ml} \\ &= 0,386 \text{ mg}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{Yield beta karoten} &= \frac{\text{massa asam linoleat dalam ekstrak}}{\text{massa starting material}} \times 100 \\ \% & \\ &= \frac{0,386 \text{ mg}}{19727 \text{ mg}} \\ &= 5,87 \frac{\mu\text{g}}{\text{gr sampel}}\end{aligned}$$

Untuk mendapatkan kadar keseluruhan asam linoleat maka, perlu dihitung kadar dari masing – masing ekstrak hingga menit ke-180 sesuai dengan perhitungan diatas, kemudian dijumlahkan. Berdasarkan perhitungan yang telah dilakukan , didapatkan kadar asam linoleat dalam *Gracilaria sp* adalah 0,26 %

## BIODATA PENULIS



Dwi Setyorini lahir di Sidoarjo, 11 Februari 1995. Penulis merupakan anak kedua dari dua bersaudara dari pasangan Setya Kuncahyono dan Yayuk Widayati , Penulis telah menempuh pendidikan TK Faqih Hasyim (1998-2001), SDN Kemiri Sidoarjo (2001-2007), SMPN 3 Sidoarjo (2007-2010), dan SMAN 1 Blitar (2010-2013). Lalu penulis melanjutkan studi S1 di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Jurusan Teknik Kimia pada tahun 2013-2017. Selama masa studinya

di Teknik Kimia FTI-ITS beliau pernah menjabat sebagai *Secretary of* BEM FTI-ITS. Pada 2016 beliau pernah Kerja Praktek di PT. Pertamina RU IV Cilacap. Dan pada tahun terakhirnya di Jurusan Teknik Kimia FTI-ITS penulis mengerjakan tugas akhir di Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran Bersama Partnernya Ridlo Aanisah dan dibawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng. dan Dr. Siti Machmudah, S.T., M.Eng. Penulis berhasil menyelesaikan Pra Desain Pabrik “Pembangkit listrik dari ampas tebu (bagasse)” dan penulisan buku skripsi ini.

### DATA PRIBADI PENULIS

<b>Nama</b>	<b>Dwi Setyorini</b>
<b>No. HP</b>	081257661874
<b>Email</b>	<a href="mailto:Dwisetyo1995@gmail.com">Dwisetyo1995@gmail.com</a>

## BIODATA PENULIS



Ridlo Aanisah lahir di Gresik pada tanggal 6 Juni 1995. Penulis merupakan putri bapak Ikhsan dan ibu Sukesni yang telah menempuh pendidikan TK Islam Bhakti 6 Gresik (1999-2001). Penulis melanjutkan pendidikan di SD Nahdlatul ‘Ulama 1 Gresik tahun 2001-2007, melanjutkan di SMP Negeri 3 Gresik tahun 2007-2010, dan melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Gresik, tahun 2010-2013. Penulis melanjutkan studi S1 di Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya Jurusan Teknik

Kimia pada tahun 2013-2017. Selama masa studinya di Teknik Kimia FTI-ITS, penulis pernah menjabat sebagai *Section Head of Communication* di HIMATEKK FTI-ITS. Penulis pernah melaksanakan kerja praktek di PT. Polychem Indonesia periode Juli-Agustus 2016. Di akhir masa studi, penulis mengerjakan Tugas Akhir di Laboratorium Mekanika Fluida dan Pencampuran bersama patner Dwi Setyorini di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Sugeng Winardi, M.Eng dan Dr. Siti Machmudah, S.T., M.Eng. Penulis berhasil menyelesaikan tugas pra-Desain Pabrik Kimia dengan judul “Pembangkit Energi dari Bagasse” dan Skripsi yang berjudul “Ekstraksi Senyawa Fitokimia dari Alga *Eucheuma cottonii* dan *Gracilaria sp* Menggunakan CO<sub>2</sub> Superkritis dan Air Subkritis sebagai Pelarut”.

### DATA PRIBADI PENULIS

<b>Nama</b>	<b>Ridlo Aanisah</b>
<b>No. HP</b>	081333483977
<b>Email</b>	<a href="mailto:aanisah6695@gmail.com">aanisah6695@gmail.com</a>

