

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan diawali dengan identifikasi karakteristik bahan baku melalui perhitungan rata-rata kadar air yang dapat dilihat pada lampiran 2.

Data hasil berat ekstrak dan *yield*  $\beta$ -karoten dapat dilihat pada Tabel 4.

**Tabel 4.** *Yield*  $\beta$ -karoten pada penelitian pendahuluan

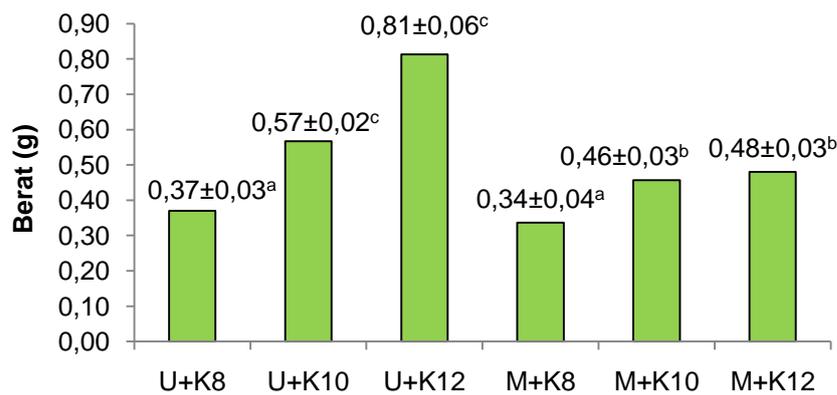
Parameter	Jumlah
Berat tepung <i>Dunaliella</i> sp. (g)	15
Rata-rata kadar air tepung <i>Dunaliella</i> sp.(%)	8,34
<i>Yield</i> $\beta$ -karoten ( $\mu\text{g/g}$ ekstrak)	61,30

Tabel 4. Menunjukkan bahwa hasil karakteristik bahan baku pada kadar air *Dunaliella* sp. yang digunakan sebagai bahan baku pada penelitian ini yaitu sebesar 8,34% hasil ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian Darsih *et al.*, (2012) yang menghasilkan kadar air sebesar 15,58% *Dunaliella* sp. kemudian hasil *yield*  $\beta$ -karoten pada penelitian pendahuluan diperoleh sebesar 63,95  $\mu\text{g/g}$  ekstrak, hasil penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan pernyataan Fretes *et al.*, (2012) yang menyatakan bahwa total  $\beta$ -karoten pada *Dunaliella* sp. sebesar 60,4  $\mu\text{g/g}$ .

### 4.2 Penelitian Utama

#### 4.2.1 Ekstrak *Dunaliella* sp.

Data dan analisa ragam berat ekstrak *Dunaliella* sp. dapat dilihat pada Lampiran 3. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa antara perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap berat ekstrak *Dunaliella* sp. yang dihasilkan. Rata-rata berat ekstrak dan konsentrasi pelarut ekstraksi disajikan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Ekstrak *Dunaliella* sp. pada berbagai metode dan konsentrasi.

Gambar 6 menunjukkan bahwa *Dunaliella* sp. yang di ekstraksi dengan metode ultrasonik pada konsentrasi pelarut 1:12 menghasilkan berat ekstrak tertinggi. Ekstraksi menggunakan metode ultrasonik menghasilkan gelembung uap kecil yang tidak stabil sehingga mudah pecah. Pecahnya gelembung disebabkan gelombang ultrasonik yang merambat pada medium yang dilewatinya mengalami getaran yang memberikan pengadukan intensif untuk membantu kontak antara pelarut dan bahan, sehingga hasil ekstraksi lebih maksimal. Sedangkan hasil ekstraksi menggunakan metode maserasi lebih rendah diduga pelarut belum mampu kontak langsung dengan bahan dan dinding sel belum rusak sehingga hasil ekstraksi kurang maksimal, dan ukuran partikel sampel *Dunaliella* sp. yang kecil dapat memperluas permukaan sampel yang kontak dengan pelarut sehingga proses ekstraksi lebih optimal (Dyahnugra dan Widjanarko, 2015).

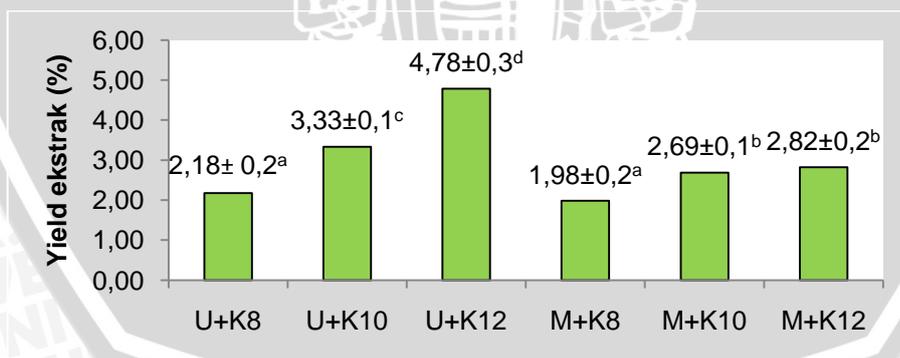
Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan akan menghasilkan berat ekstrak yang semakin tinggi pula. Menurut Farida dan Fithri (2015) menyatakan bahwa kenaikan hasil ekstraksi dikarenakan kontak antara bahan dan pelarut ketika penggunaan volume pelarut yang lebih banyak, sehingga memudahkan pelarut untuk melakukan penetrasi ke dalam sel bahan dan melarutkan senyawa target. Naiknya penetrasi pelarut ke dalam

jaringan tumbuhan dikarenakan gelembung kavitasi akan terbentuk pada dinding sel tanaman akibat adanya gelombang ultrasonik, efek dari pecahnya gelembung kavitasi ini dapat meningkatkan pori-pori dinding sel tumbuhan, dinding sel akan terpecah disebabkan oleh tipisnya bagian kelanjar sel tumbuhan yang dapat mudah rusak oleh sonifikasi, sehingga proses ekstraksi dengan ultrasonik menjadi lebih optimal (Manasika dan Widjanarko, 2015).

Total berat ekstrak yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian Fidyani *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa pada *Dunaliella sp.* dengan berat sampel 150 g dan konsentrasi pelarut 1:3 menghasilkan total berat ekstrak sebesar 4,06 g.

#### 4.2.2 Yield Ekstrak *Dunaliella sp.*

Data dan analisa ragam *yield* ekstrak *Dunaliella sp.* dapat dilihat pada Lampiran 4. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap *yield* ekstrak *Dunaliella sp.* yang dihasilkan. Rata-rata *yield* ekstrak dan konsentrasi pelarut ekstraksi disajikan pada Gambar 7.



**Gambar 7.** Yield ekstrak *Dunaliella sp.* pada berbagai metode dan konsentrasi.

Gambar 7 menunjukkan bahwa *Dunaliella sp.* yang di ekstraksi dengan metode ultrasonik pada konsentrasi pelarut 1:12 menghasilkan *yield* ekstrak yang tertinggi. Diduga pada perlakuan ekstraksi menggunakan metode ultrasonik

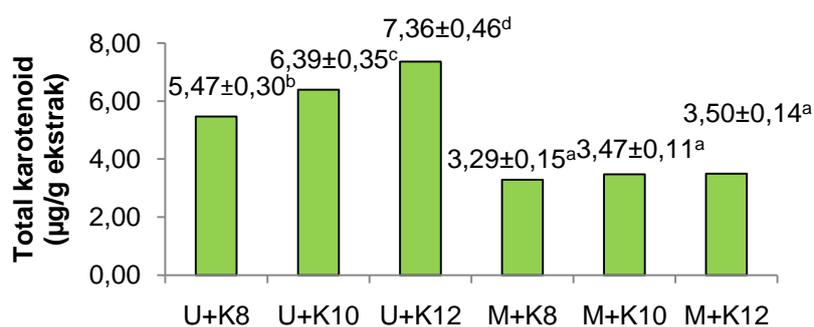
menghasilkan gelembung uap kecil yang tidak stabil sehingga mudah pecah. Pecahnya gelembung disebabkan gelombang ultrasonik yang merambat pada medium yang dilewatinya mengalami getaran yang memberikan pengadukan intensif untuk membantu kontak antara pelarut dan bahan, sehingga hasil ekstraksi lebih maksimal. Sedangkan hasil ekstraksi menggunakan metode maserasi lebih rendah diduga pelarut belum mampu kontak langsung dengan bahan dan dinding sel belum rusak sehingga hasil ekstraksi kurang maksimal, dan ukuran partikel sampel *Dunaliella* sp. yang kecil dapat memperluas permukaan sampel yang kontak dengan pelarut sehingga proses ekstraksi lebih optimal (Dyahnugra dan Widjanarko, 2015).

Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan akan menghasilkan *yield* ekstrak yang semakin tinggi pula. Menurut Farida dan Fithri (2015) menyatakan bahwa kenaikan hasil ekstraksi dikarenakan kontak antara bahan dan pelarut ketika penggunaan volume pelarut yang lebih banyak, sehingga memudahkan pelarut untuk melakukan penetrasi ke dalam sel bahan dan melarutkan senyawa target. Naiknya penetrasi pelarut ke dalam jaringan tumbuhan dikarenakan gelembung kavitasi akan terbentuk pada dinding sel tanaman akibat adanya gelombang ultrasonik, efek dari pecahnya gelembung kavitasi ini dapat meningkatkan pori-pori dinding sel tumbuhan, dinding sel akan terpecah disebabkan oleh tipisnya bagian kelanjar sel tumbuhan yang dapat mudah rusak oleh sonifikasi, sehingga proses ekstraksi dengan ultrasonik menjadi lebih optimal (Manasika dan Widjanarko, 2015).

*Yield* ekstrak pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian chen *et al.*, (2013) yang menyatakan bahwa dalam penelitian mikroalga *Dunaliella salina* dengan metode ultrasonik selama 30 menit menghasilkan ekstrak sebesar 2,47 g.

#### 4.2.3 Total Karotenoid *Dunaliella* sp.

Data total karotenoid pada ekstrak kasar *Dunaliella* sp. dapat dilihat pada Lampiran 5. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap total karotenoid ekstrak kasar *Dunaliella* sp. yang dihasilkan. Rata-rata total karotenoid dan konsentrasi pelarut ekstraksi disajikan pada Gambar 8.



**Gambar 8.** Total karotenoid *Dunaliella* sp. pada berbagai metode dan konsentrasi.

Gambar 8 menunjukkan bahwa *Dunaliella* sp. yang di ekstraksi dengan metode ultrasonik pada konsentrasi pelarut 1:12 menghasilkan total karotenoid yang tertinggi. Tingginya total karotenoid diduga pada perlakuan ekstraksi menggunakan metode ultrasonik menghasilkan gelembung uap kecil yang tidak stabil sehingga mudah pecah. Pecahnya gelembung ini dikarenakan gelombang ultrasonik yang merambat pada medium yang dilewatinya mengalami getaran yang memberikan pengadukan intensif untuk membantu kontak antara pelarut dan bahan sehingga total karotenoid yang dihasilkan lebih tinggi. Total karotenoid menggunakan metode maserasi lebih rendah diduga pelarut belum mampu kontak langsung dengan bahan dan dinding sel belum rusak sehingga hasil total karotenoid kurang maksimal, dan ukuran partikel sampel *Dunaliella* sp. yang kecil dapat memperluas permukaan sampel yang kontak dengan pelarut sehingga proses ekstraksi lebih optimal (Dyahnugra dan Widjanarko, 2015)

Hasil menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi pelarut yang digunakan akan menghasilkan total karotenoid yang semakin tinggi pula. Menurut Farida dan Fithri (2015) menyatakan bahwa kenaikan hasil ekstraksi dikarenakan kontak antara bahan dan pelarut ketika penggunaan volume pelarut yang lebih banyak, sehingga memudahkan pelarut untuk melakukan penetrasi ke dalam sel bahan dan melarutkan senyawa target. Naiknya penetrasi pelarut ke dalam jaringan tumbuhan dikarenakan gelembung kavitas akan terbentuk pada dinding sel tanaman akibat adanya gelombang ultrasonik, efek dari pecahnya gelembung kavitas ini dapat meningkatkan pori-pori dinding sel tumbuhan, dinding sel akan terpecah disebabkan oleh tipisnya bagian kelanjar sel tumbuhan yang dapat mudah rusak oleh sonifikasi, sehingga proses ekstraksi dengan ultrasonik menjadi lebih optimal (Manasika dan Widjanarko, 2015).

Total karotenoid yang dihasilkan pada penelitian ini lebih rendah dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Manasika dan Simon (2015) menggunakan umbi kabocho dengan konsentrasi 1:9 yang menghasilkan total karotenoid sebesar 254,77 mg/mL.

#### 4.2.4 Isolasi $\beta$ -Karoten ekstrak *Dunaliella Sp.*

Hasi dari proses isolasi 0,3 g ekstrak kering *Dunaliella sp.* dengan penggunaan metode ekstraksi dan konsentrasi pelarut yang berbeda dapat dilihat pada Tabel 5.

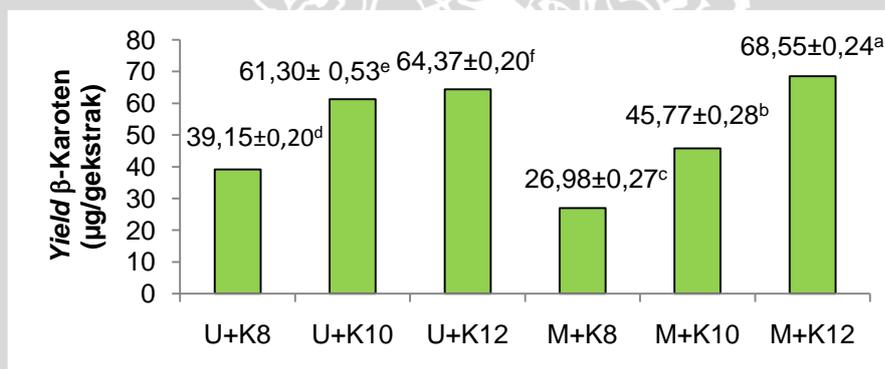
**Tabel 5.** Isolasi  $\beta$ -Karoten ekstrak *Dunaliella Sp.*

Perlakuan	Total botol isolat $\beta$ -Karoten
U+K8	2
U+K10	2
U+K12	3
M+K8	2
M+K10	3
M+K12	2

Tabel 5 memberikan informasi bahwa isolasi dengan penggunaan metode ekstraksi dan konsentrasi pelarut yang berbeda menghasilkan beberapa isolat  $\beta$ -karoten yang ditandai dengan hasil isolat berwarna kuning hingga oranye. Senyawa beta karoten merupakan karotenoid berwarna kuning dan merah yang terdapat pada tumbuhan maupun buah-buahan (Winarno, 2004). Pada *Dunaliella* sp. beta karoten adalah berwarna kuning (Yudiati *et al.*, 2011).

#### 4.2.5 Yield $\beta$ -karoten *Dunaliella* sp.

Data *yield*  $\beta$ -karoten *Dunaliella* sp. dapat dilihat pada lampiran 5. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa antar perlakuan memberikan pengaruh yang nyata ( $p < 0,05$ ) terhadap *yield*  $\beta$ -karoten *Dunaliella* sp. yang dihasilkan. Rata-rata *yield*  $\beta$ -karoten dengan perbedaan metode ekstraksi dan konsentrasi pelarut ekstraksi disajikan pada Gambar 9.



**Gambar 9.** Yield  $\beta$ -karoten *Dunaliella* sp. pada berbagai metode dan konsentrasi.

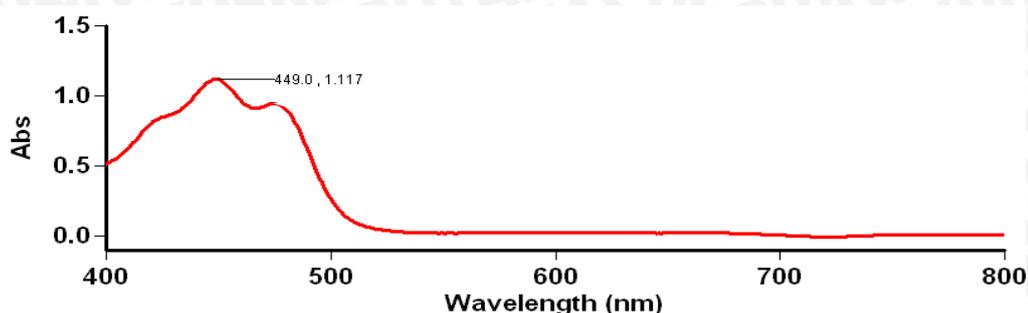
Gambar 9 menunjukkan bahwa *yield*  $\beta$ -karoten *Dunaliella* sp. yang di ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan konsentrasi pelarut 1:12 menghasilkan *yield*  $\beta$ -karoten yang tertinggi. Tingginya kadar  $\beta$ -karoten pada mikroalga *Dunaliella* sp. dengan menggunakan metode maserasi diduga karena pada saat maserasi suhu yang digunakan tidak terlalu tinggi dan dalam keadaan tertutup sehingga meminimalisir terjadinya proses oksidasi yang menyebabkan

berkurangnya *yield*  $\beta$ -karoten, sedangkan pada saat ekstraksi menggunakan metode ultrasonik terjadi proses *cavitation bubble* yang menghasilkan panas sehingga dapat mempengaruhi *yield*  $\beta$ -karoten yang terekstrak pada metode ekstraksi ultrasonik lebih rendah. Penggunaan waktu yang terlalu lama akan menyebabkan senyawa yang telah larut dalam pelarut menjadi terpisah kembali (Supardan *et al.*, 2011).

Penggunaan konsentrasi pelarut pada metode ultrasonik diperoleh hasil semakin banyak konsentrasi pelarut yang digunakan maka semakin banyak *yield*  $\beta$ -karoten yang dihasilkan. Handayani *et al.*, (2015) yang menyatakan bahwa semakin bertambahnya konsentrasi pelarut yang digunakan maka akan semakin banyak komponen bahan yang dapat terekstrak oleh pelarut. Komponen bahan yang terekstrak akan terus meningkat hingga larutan menjadi jenuh, setelah melewati titik jenuh larutan, tidak akan terjadi peningkatan hasil ekstraksi dengan penambahan pelarut. *Yield*  $\beta$ -karoten yang dihasilkan pada penelitian ini lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian yang dilakukan Elbaky *et al.*, (2007) menggunakan mikroalga *Dunaliella sp.* yang menghasilkan *yield*  $\beta$ -karoten sebesar 60,4  $\mu\text{g/g}$ .

#### 4.2.6 Spektra Visible $\beta$ -karoten *Dunaliella sp.*

Metode spektrofotometri Visible digunakan untuk analisa kuantitatif suatu senyawa. Prinsip spektrofotometri adalah penyerapan cahaya oleh molekul-molekul dalam larutan. Molekul dapat menyerap radiasi dari daerah UV-Vis karena mengandung elektron. Absorbansi terjadi bergantung pada kekuatan elektron terikat dalam molekul. Absorbansi UV-Vis terjadi karena adanya transisi elektron yang terjadi pada suatu molekul dari level yang satu ke level yang lainya (Arham *et al.*, 2014). Spektra visible  $\beta$ -karoten *Dunaliella sp.* dapat dilihat pada gambar 10.



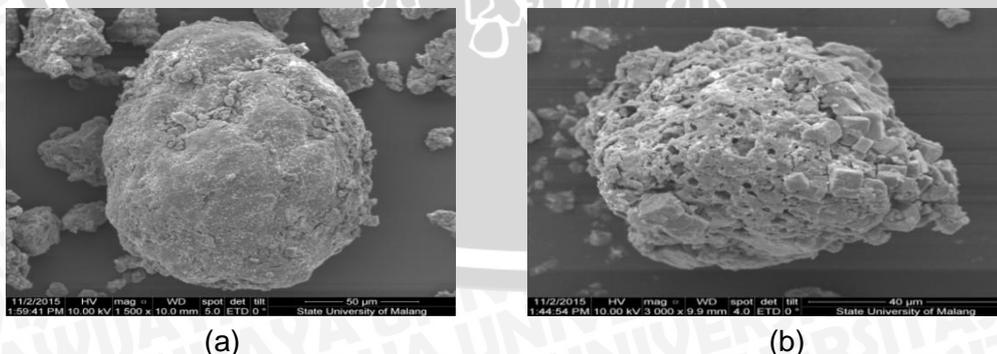
**Gambar 10.** Panjang gelombang optimum Spektrofotometer Visible  $\beta$ -Karoten

*Dunaliella sp.*

Gambar 10 menunjukkan hasil serapan spektra visible  $\beta$ -karoten *Dunaliella sp.* di peroleh pada panjang gelombang 400 nm hingga 800 nm. Panjang gelombang 400 nm hingga 800 nm merupakan sinar tampak yang dapat digunakan untuk mengukur pigmen kuning  $\beta$ -karoten.  $\beta$ -karoten memiliki pigmen warna kuning, orange hingga merah yang mempunyai panjang gelombang 400 nm hingga 478 nm (Wahyuni dan Widjanarko, 2015).

**4.2.7 Perubahan Dinding Sel *Dunaliella sp.* dengan SEM (Scanning Electron Microscope)**

Perubahan dinding sel mikroalga *Dunaliella sp.* sebelum ekstraksi dan setelah ekstraksi dengan ultrasonik dengan menggunakan *Scanning electron microscope*. Hasil *Scanning electron microscope Dunaliella sp.* dapat dilihat pada Gambar 11.



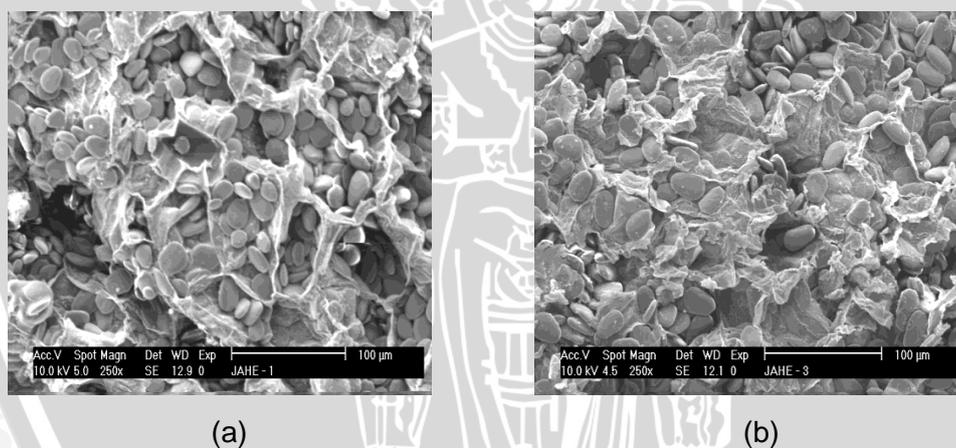
(a)

(b)

Gambar 11. (a) Dinding sel *Dunaliella sp.* sebelum di ekstraksi menggunakan ultrasonik (b) Dinding sel *Dunaliella sp.* setelah di ekstraksi menggunakan ultrasonik.

Gambar 11 menunjukkan hasil *Scanning electron microscope* pada *Dunaliella* sp. sebelum ultrasonik permukaan dinding sel masih utuh. Permukaan dinding sel *Dunaliella* sp. setelah ultrasonik terlihat rusak dengan ditandai adanya lubang lubang kecil pada permukaan dinding sel. Rusaknya dinding sel dengan ekstraksi menggunakan metode ultrasonik memungkinkan terjadinya penetrasi pelarut dalam sel mikroalga dikarenakan gelombang ultrasonik yang merambat pada medium yang dilewatinya mengalami getaran dan memberikan pengadukan yang intensif serta menghasilkan panas yang membantu kontak antara pelarut dan bahan, sehingga terjadi peningkatan pori pori pada dinding sel *Dunaliella* sp

Menurut Fuadi (2012), Hasil analisa SEM irisan Jahe sesudah ekstraksi ultrasonik dan maserasi , ditunjukkan pada Gambar 12.



Gambar 12. (a) Hasil analisa SEM irisan jahe setelah proses ekstraksi ultrasonik (b) Hasil analisa SEM irisan jahe setelah proses ekstraksi maserasi.

Besarnya kerusakan bahan ini terjadi akibat adanya gelombang ultrasonik yang merambat pada bahan. Penggunaan ultrasonik akan menyebabkan terjadinya perusakan dinding sel biologis suatu bahan sehingga pelepasan bahan yang akan diekstrak akan menjadi lebih mudah (Fuadi, 2012).