

Pengaruh Perlakuan pH dan Suhu terhadap Stabilitas Ekstrak Alga Merah (*Gracilaria* sp.) sebagai Pewarna Alami

*The Effect of pH and Temperature on Red Algae (*Gracilaria* sp.) Extract Stability as Natural Dyes*

Odilia Keron, Luh Putu Wrasianti*, Ida Bagus Wayan Gunam

PS Teknologi Industri Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Udayana, Kampus Bukit
Jimbaran, Badung, Kode pos : 80361; Telp/Fax : (0361) 701801

Diterima 02 Agustus 2021 / Disetujui 31 Agustus 2021

ABSTRACT

*Phycocerythrin is a red pigment found in red algae. Red algae *Gracilaria* sp. potential to be a source of natural dye because it contains phycocerythrin. Phycocerythrin is unstable to light, pH, and temperature. The purpose of this study was to determine the effect of pH and temperature on the stability of the dye extract from the red algae *Gracilaria* sp. and determine the pH and temperature that best maintain the constancy of the red algae *Gracilaria* sp. extract during storage. The design in this study used a completely randomized design with two factors, namely pH and temperature. First factor was the pH treatment which consist of three levels namely pH 4, pH 7 and pH 10 and second factor was initial temperature consist of two levels, namely $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ and $28\pm 2^{\circ}\text{C}$. The results showed that pH had a very significant effect ($P<0.01$) on the total phycocerythrin, brightness (L^*), redness (a^*) and yellowness (b^*) at weeks 2, 3, 4. Temperature treatment has a very significant effect on the total phycocerythrin and brightness (L^*) at weeks 3 and 4, as well the level redness (a^*) and the level yellowness (b^*) at weeks 2, 3 and 4. At pH 4 and cold temperature ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) were the best treatments to maintain the stability of the red algae *Gracilaria* sp. extract during storage. They had the lowest decrease in phycocerythrin levels and redness (a^*), and had the smallest increase in brightness (L^*) and yellowness (b^*). Extract that were stored for 4 weeks with pH 4 and temperature $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ treatment had decrease in total phycocerythrin, increase in brightness (L^*), decrease in redness (a^*), and increase in yellowness (b^*) successively was 13.04%, 0.47%, 6.58%, dan 3.50%.*

Keywords : *Gracilaria* sp. extract, phycocerythrin, pH, temperature, stability.

ABSTRAK

Fikoerittrin merupakan pigmen berwarna merah yang terdapat dalam alga merah. Alga merah *Gracilaria* sp. berpotensi menjadi sumber pewarna alami. Fikoerittrin memiliki sifat yang tidak stabil terhadap cahaya, pH dan suhu. Tujuan dari penelitian ini adalah mengetahui pengaruh pH dan suhu terhadap stabilitas ekstrak pewarna dari alga merah *Gracilaria* sp. selama penyimpanan serta menentukan pH dan suhu terbaik yang dapat mempertahankan warna merah pada ekstrak tersebut. Rancangan dalam penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan dua faktor yakni pH dan suhu. Faktor I adalah perlakuan pH yang terdiri dari 3 taraf yaitu pH 4, 7 dan 10. Faktor II adalah suhu yang terdiri dari dua taraf yaitu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan $28\pm 2^{\circ}\text{C}$. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pH berpengaruh sangat nyata ($p<0,01$) terhadap total fikoerittrin, tingkat kecerahan (L^*), tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*) pada minggu ke-2, 3, 4. Perlakuan suhu berpengaruh sangat nyata terhadap kadar total fikoerittrin dan tingkat kecerahan (L^*) pada minggu ke-3 dan 4,

*Korespondensi Penulis:
Email: wrasiati@unud.ac.id

serta tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*) pada minggu ke-2, 3, dan 4. Perlakuan pH 4 dan suhu dingin ($4\pm 2^\circ\text{C}$) merupakan perlakuan terbaik untuk mempertahankan stabilitas ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. selama penyimpanan karena memiliki penurunan kadar fikoeittrin dan penurunan tingkat kemerahan (a^*) terkecil, serta memiliki kenaikan tingkat kecerahan (L^*) dan tingkat kekuningan (b^*) terkecil. Ekstrak yang mengalami penyimpanan 4 minggu dengan perlakuan pH 4 dan suhu $4\pm 2^\circ\text{C}$ memiliki persentase penurunan kadar fikoeittrin, kenaikan nilai kecerahan (L^*), penurunan nilai kemerahan (a^*) dan kenaikan nilai kekuningan (b^*) berturut-turut adalah 13,04%, 0,47%, 6,58%, dan 3,50%.

Kata kunci : ekstrak *Gracilaria* sp., fikoeittrin, pH, suhu, stabilitas warna

PENDAHULUAN

Gracilaria sp. merupakan salah satu jenis rumput laut golongan alga merah (*Rhodophyta*) yang banyak dibudidayakan di Indonesia karena memiliki nilai ekonomis tinggi sehingga mampu menjadi salah satu komoditas ekspor (Alamsjah *et al.*, 2010). Penelitian Niu *et al.* (2006) menunjukkan bahwa warna merah pada rumput laut *Gracilaria* sp. dapat diekstrak menjadi pewarna alami untuk dapat menggantikan pewarna sintesis. Zat pewarna dapat ditemukan dalam rumput laut merah karena mengandung pigmen fikobilin yang terdiri dari fikoeittrin dan fikosianin (Romay *et al.*, 2000; Suhartono dan Angka, 2000). Pigmen fikoeittrin dapat diperoleh melalui ekstraksi menggunakan metode maserasi menggunakan pelarut polar.

Ekstraksi dengan pelarut adalah proses pemisahan suatu senyawa yang dilakukan dengan cara melarutkan campuran dalam pelarut tertentu. Sudhakar *et al.* (2015) melakukan ekstraksi dengan pelarut yang berbeda yaitu *buffer fosfat*, aquades, dan air laut. Hasil menunjukkan ekstrak aquades memiliki kandungan fikoeittrin tertinggi yakni sebesar 0,038 mg/mL diikuti dengan ekstrak *buffer fosfat* dan air laut sebesar 0,028 mg/mL dan 0,024 mg/mL. Metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi dengan cara merendam bahan dengan pelarut polar atau non-polar dalam waktu tertentu, sehingga diperoleh filtrat dengan residu bahan yang dimaserasi (Septiana dan Asnani, 2012). Metode maserasi dipilih untuk mengekstrak pigmen fikoeittrin karena sifat fikoeittrin yang mudah terdegradasi bila terpapar intensitas

cahaya tinggi dan panas secara langsung (Agustini, 2013).

Penyimpanan pada pH dan suhu tertentu mempengaruhi kestabilan terhadap ekstrak *Gracilaria* sp. Berdasarkan penelitian Indriyani *et al.* (2018) tentang stabilitas karotenoid ekstrak pewarna buah pandan (*Pandanus tetoris*) pada suhu dan pH awal penyimpanan memperoleh hasil perlakuan pH berpengaruh sangat nyata pada setiap minggunya terhadap total karotenoid. Ekstrak pewarna karotenoid buah pandan paling stabil pada perlakuan pH 7 (netral) dan pada penyimpanan suhu dingin ($4\pm 3^\circ\text{C}$) selama 4 minggu penyimpanan dengan persentase penurunan total karotenoid sebesar 34,29%.

Berdasarkan penelitian Kawsar *et al.* (2011) fikoeittrin stabil disimpan pada pH 4 sampai 10 dan tahan pada suhu dibawah 40°C , tetapi sensitif terhadap cahaya (Munier *et al.*, 2014). Rentang pH dan suhu dari penelitian Kawsar *et al.* (2011) dan Munier *et al.* (2014) masih terlalu besar untuk aplikasi penyimpanan dan aplikasi pada produk pangan. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh perlakuan pH dan suhu terhadap stabilitas ekstrak alga merah (*Gracilaria* sp.) agar mampu dimanfaatkan sebagai sumber pewarna alami.

METODE PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alga merah *Gracilaria* sp., aquades, *buffer fosfat* pH 4, pH 7, dan pH 10.

Peralatan yang digunakan dalam

penelitian ini antara lain oven (*Blue M*), blender (*Miyako*), mesin *grinder* (Damiji model: FFC-15), timbangan analitik (*Shimadzu*), spektrofotometer (*Biochrome SN 133467*), *rotary evaporator vacuum*, vortex (*Barnstead Thermolyne Maxi Mix II*), ayakan 60 mesh (*Retsch*), *color reader* (*Colorimeter PCE-CSM1, PCE-CSM 2 and PCE-CSM 4*) dan alat-alat gelas.

Pelaksanaan Penelitian

Pembuatan bubuk *Gracilaria* sp.

Gracilaria sp. yang digunakan pada penelitian ini yaitu yang berwarna merah dengan panjang talus 10 – 20 cm. *Gracilaria* sp. yang masih segar dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan selama 5 – 6 hari lalu dipotong-potong dan dilanjutkan dengan pengeringan dengan menggunakan oven *drier* pada suhu $50\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 3 jam atau sampai mudah dihancurkan. *Gracilaria* sp. yang telah kering kemudian dihancurkan dengan mesin *grinder*. Bubuk *Gracilaria* sp. yang telah halus kemudian diayak dengan ayakan 60 mesh. Bahan yang tidak lolos ayakan diblender kembali hingga lolos ayakan 60 mesh. Kadar air dari bubuk *Gracilaria* sp. yaitu 15,48%.

Pembuatan ekstrak *Gracilaria* sp.

Bubuk *Gracilaria* sp. ditimbang sebanyak 70 g dan dimasukkan ke dalam botol kaca berwarna gelap, kemudian ditambahkan pelarut aquades sebanyak 700 mL. Perbandingan bubuk *Gracilaria* sp. dengan pelarut aquades yaitu 1:10 (b/v). Proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi menggunakan suhu ruangan ($28\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan lama maserasi 10 jam. Selama ekstraksi setiap 6 jam digojog selama 5 menit. Setelah proses maserasi, dilakukan proses penyaringan dengan menggunakan kertas saring sebanyak 2 kali. Penyaringan pertama menggunakan kertas saring kasar yang kemudian menghasilkan filtrat I dan ampas. Ampas kemudian ditambahkan dengan pelarut sebanyak 100 mL, digojog selama 5 menit, dan

kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring kasar dan kemudian menghasilkan filtrat II. Filtrat I dan II kemudian dicampur dan disaring kembali dengan menggunakan kertas saring Whatman no.1. Filtrat kemudian dievaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 45°C dengan tekanan 100 mBar sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah sampel yang berwarna gelap.

Uji stabilitas ekstrak *Gracilaria* sp.

Ekstrak *Gracilaria* sp. yang disimpan pada perlakuan (pH 4, pH 7, dan pH 10) menggunakan larutan *buffer* untuk mengatur keasaman. Ekstrak kental ditimbang sebanyak 1 g dihomogenkan dengan 10 mL dari masing-masing pelarut kemudian disimpan di dalam botol kaca gelap. Sampel yang telah homogen kemudian disimpan sesuai perlakuan ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$ dan $28\pm 2^{\circ}\text{C}$). Perlakuan suhu $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ ekstrak disimpan pada kulkas dan perlakuan suhu $28\pm 2^{\circ}\text{C}$ ekstrak disimpan pada suhu ruangan, kemudian dilakukan pengamatan setiap minggu selama 4 minggu terhadap intensitas kadar fikoeritrin menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 564 – 730 nm dan intensitas warna dengan *color reader*.

Variabel yang diamati

Variabel yang diamati dalam penelitian ini yaitu kadar total fikoeritrin (Siegelman dan Kycia, 1987; Silveira *et al.*, 2007) dan intensitas warna yang meliputi L^* , a^* dan b^* (Weafer, 1996).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar total fikoeritrin

Ekstrak *Gracilaria* sp. minggu ke-0 mempunyai total fikoeritrin sebesar 0,299 mg/g. Pengamatan uji stabilitas ekstrak pewarna dari alga merah *Gracilaria* sp. menunjukkan bahwa semua perlakuan pH dan suhu awal pada penyimpanan ekstrak pewarna

dari alga merah *Gracilaria* sp. mengakibatkan penurunan pada total fikoeritrin selama 4 minggu penyimpanan.

Hasil analisis ragam total fikoeritrin menunjukkan bahwa perlakuan pH berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) untuk minggu ke-2, 3, dan 4 serta berpengaruh nyata

($p < 0,05$) pada minggu ke-1. Perlakuan suhu menunjukkan pengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-3 dan 4. Interaksi kedua perlakuan tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1, 2 dan 4. Rata-rata total fikoeritrin ekstrak *Gracilaria* sp. selama penyimpanan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata total fikoeritrin ekstrak *Gracilaria* sp. pada perlakuan pH dan suhu penyimpanan pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4

Minggu ke-1				Minggu ke-2			
pH	Suhu		Rata-rata \pm SD	pH	Suhu		Rata-rata \pm SD
	4 \pm 2°C	28 \pm 2°C			4 \pm 2°C	28 \pm 2°C	
4	0,280	0,270	0,275 \pm 0,008 ^a	4	0,276	0,266	0,271 \pm 0,008 ^a
7	0,269	0,260	0,264 \pm 0,012 ^{ab}	7	0,264	0,258	0,261 \pm 0,014 ^{ab}
10	0,257	0,241	0,249 \pm 0,017 ^b	10	0,245	0,236	0,240 \pm 0,008 ^b
Rata-rata \pm SD	0,268 \pm 0,019 ^a	0,257 \pm 0,012 ^a		Rata-rata \pm SD	0,262 \pm 0,017 ^a	0,253 \pm 0,015 ^a	

Minggu ke-3			Minggu ke-4			
pH	Suhu		pH	Suhu		Rata-rata \pm SD
	4 \pm 2°C	28 \pm 2°C		4 \pm 2°C	28 \pm 2°C	
4	0,271 \pm 0,009 ^a	0,249 \pm 0,006 ^b	4	0,265	0,246	0,256 \pm 0,119 ^a
7	0,247 \pm 0,006 ^{bc}	0,248 \pm 0,003 ^{bc}	7	0,230	0,220	0,225 \pm 0,010 ^b
10	0,238 \pm 0,015 ^{bcd}	0,216 \pm 0,004 ^e	10	0,220	0,204	0,214 \pm 0,012 ^c
			Rata-rata \pm SD	0,239 \pm 0,019 ^a	0,223 \pm 0,020 ^b	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan pada masing-masing perlakuan

Persentase total fikoeritrin ekstrak *Gracilaria* sp. selama penyimpanan pada masing-masing perlakuan mengalami penurunan setiap minggunya. Pada minggu ke-1 dan ke-2 kadar fikoeritrin ekstrak *Gracilaria* sp. tidak terjadi perbedaan nyata antara pH 4 dan pH 7 serta tidak berbeda pada perlakuan suhu penyimpanan yang ditandai dengan sedikit berkurangnya warna kemerahan pada ekstrak *Gracilaria* sp. Pada minggu ke-3 kadar fikoeritrin ekstrak *Gracilaria* sp. pada perlakuan pH 4 suhu 4 \pm 2°C berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pada minggu ke-4 terjadi perbedaan nyata antara perlakuan pH dan suhu pada setiap perlakuan. Perlakuan pH 10 pada suhu 28 \pm 2°C menunjukkan penurunan total fikoeritrin terbesar dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 33,11%. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen fikoeritrin

pada ekstrak pewarna alga merah *Gracilaria* sp. paling tidak stabil pada perlakuan tersebut. Penelitian serupa juga menunjukkan bahwa fikoeritrin dari alga merah *Rhododymenia palmata* stabil pada range pH 3,5 – 9,5 (Galland-Irmouli *et al.*, 2000), alga merah *Polysiphonia urceolata* stabil pada range pH 3,5 – 9,5 (Liu *et al.*, 2009) dan alga merah *Porphyra yezoensis* (Orta-Ramirez *et al.*, 2000) stabil pada range pH 3,5 – 9,5. Penambahan pH dapat menyebabkan terganggunya sifat elektrostatis dan ikatan hidrogen yang terdapat dalam protein yang dapat menyebabkan perubahan struktur kromofor (Claire, 1992). Saat keadaan pH di bawah dari 3 dan lebih dari 10 akan mengalami denaturasi protein ditandai dengan hilangnya warna karena protein hanya berfungsi biologis pada nilai pH yang terbatas (Naga *et al.*, 2010;

Kawsar *et al.*, 2011). Selain itu pigmen fikokserin stabil pada penyimpanan dengan kondisi suhu rendah. Seiring dengan peningkatan suhu menyebabkan hilangnya kestabilan pigmen karena penurunan α -helix (D'Agnolo *et al.*, 1993). Hal ini sesuai dengan penelitian Rossano (2003) bahwa fikokserin dari alga merah *C. elongate* stabil pada suhu 4°C yang disimpan dalam kondisi gelap.

Tingkat Kecerahan (L^*)

Nilai L^* menyatakan tingkat kecerahan, yaitu tingkat gelap hingga terang dengan rentan nilai 0 – 100 (Indrayati *et al.* 2013). Semakin besar nilai L^* maka tingkat kecerahan semakin tinggi. Nilai kecerahan

(L^*) minggu ke-0 pada ekstrak pewarna dari alga merah *Gracilaria* sp. yang diperoleh adalah sebesar 20,80.

Analisis ragam pada nilai kecerahan menunjukkan bahwa perlakuan pH berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-2, 3 dan 4 dan berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1. Perlakuan suhu menunjukkan pengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-3 dan 4 serta berpengaruh nyata ($p > 0,01$) pada minggu ke-1. Interaksi kedua perlakuan tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1, 2, 3, dan 4. Rata-rata nilai kecerahan (L^*) ekstrak *Gracilaria* sp. tiap minggunya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata nilai kecerahan (L^*) ekstrak *Gracilaria* sp. dan laju kenaikan nilai kecerahan pada perlakuan pH dan suhu penyimpanan pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4.

Minggu ke-1				Minggu ke-2			
pH	Suhu		Rata-rata \pm SD	pH	Suhu		Rata-rata \pm SD
	4 \pm 2°C	28 \pm 2°C			4 \pm 2°C	28 \pm 2°C	
4	20,58	21,73	21,157 \pm 0,760 ^a	4	20,67	20,74	20,708 \pm 0,420 ^b
7	21,15	21,00	21,077 \pm 0,658 ^a	7	21,75	21,97	21,867 \pm 0,014 ^a
10	21,29	22,48	21,890 \pm 0,904 ^a	10	21,16	22,16	21,792 \pm 0,008 ^a
Rata-rata \pm SD	21,74 \pm 0,017 ^a	21,00 \pm 0,015 ^a		Rata-rata \pm SD	21,19 \pm 0,644 ^b	21,71 \pm 0,880 ^a	
Minggu ke-3				Minggu ke-4			
pH	Suhu		Rata-rata \pm SD	pH	Suhu		Rata-rata \pm SD
	4 \pm 2°C	28 \pm 2°C			4 \pm 2°C	28 \pm 2°C	
4	21,34	21,07	21,17 \pm 0,008 ^b	4	20,90	21,71	21,308 \pm 0,459 ^b
7	21,28	22,18	21,73 \pm 0,012 ^{ab}	7	21,41	22,33	21,872 \pm 0,573 ^{ab}
10	22,08	23,77	22,72 \pm 0,017 ^a	10	22,06	23,03	22,553 \pm 0,774 ^a
Rata-rata \pm SD	21,21 \pm 0,871 ^b	22,21 \pm 1,032 ^a		Rata-rata \pm SD	21,45 \pm 0,644 ^a	22,36 \pm 0,880 ^a	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan pada masing-masing perlakuan

Persentase nilai kecerahan (L^*) ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. selama penyimpanan pada masing-masing perlakuan mengalami kenaikan setiap minggunya. Pada minggu ke-1 perlakuan pH dan suhu tidak mengalami perbedaan. Pada minggu ke-2 perlakuan pH 7 dan pH 10 berbeda dengan perlakuan pH 4 serta perlakuan suhu 4 \pm 2°C berbeda dengan perlakuan suhu 28 \pm 2°C. Pada minggu ke-3 perlakuan pH 7 dan pH 10 tidak mengalami perbedaan nyata tetapi perbedaan nyata pada pH 4 serta pada perlakuan suhu

penyimpanan terjadi perbedaan antara suhu 4 \pm 2°C dan 28 \pm 2°C. Pada minggu ke-4 perlakuan pH 10 dan pH 4 mengalami perbedaan nyata serta suhu penyimpanan tidak mengalami perbedaan. Kenaikan nilai kecerahan menunjukkan penurunan kadar fikokserin pada ekstrak *Gracilaria* sp. pH 10 pada suhu 28 \pm 2°C menunjukkan kenaikan nilai kecerahan (L^*) terbesar dibanding dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 9,72%. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen fikokserin pada ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. tidak stabil

pada perlakuan tersebut karena kadar fikokserin yang tinggi memiliki warna yang semakin gelap atau nilai kecerahan (L^*) yang semakin rendah, begitu juga sebaliknya. Hal ini sesuai dengan penelitian Sajilata dan Singhal (2006) dan Gross (1991) yang menyatakan bahwa perubahan warna pada pigmen menunjukkan terjadinya degradasi akibat terpapar pada suhu dan cahaya dengan intensitas tinggi dalam waktu yang cukup lama.

Tingkat Kemerahan (a^*)

Nilai kemerahan (a^*) merupakan indikator untuk warna hijau hingga merah. Nilai a yang negatif menunjukkan warna hijau dan nilai a yang positif menunjukkan warna

merah (Indriyani *et al.*, 2013). Nilai kemerahan (a^*) minggu ke-0 pada ekstrak pewarna dari alga merah *Gracilaria* sp. diperoleh sebesar 20,66. Analisis ragam pada nilai kemerahan (a^*) menunjukkan bahwa pH berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-2, 3 dan 4 dan berpengaruh tidak nyata pada ($p > 0,05$) pada minggu ke-1. Perlakuan suhu berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-2, 3 dan 4 dan berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1. Interaksi kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-2, 3 dan 4 serta berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1. Rata-rata nilai kemerahan (a^*) ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. tiap minggunya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata nilai kemerahan (a^*) ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. dan laju penurunan nilai kemerahan pada perlakuan pH dan suhu penyimpanan pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4.

Minggu ke-1				Minggu ke-2			
pH	Suhu		Rata-rata \pm SD	pH	Suhu		
	4 \pm 2 $^\circ$ C	28 \pm 2 $^\circ$ C			4 \pm 2 $^\circ$ C	28 \pm 2 $^\circ$ C	
4	20,42	20,65	20,535 \pm 0,278 ^a	4	20,03 \pm 0,24 ^{ab}	20,15 \pm 0,27 ^a	
7	20,22	20,79	20,505 \pm 0,356 ^a	7	20,11 \pm 0,43 ^{ab}	19,20 \pm 0,47 ^b	
10	20,51	20,35	20,430 \pm 0,113 ^a	10	19,03 \pm 0,47 ^b	14,29 \pm 0,08 ^c	
Rata-rata \pm SD	20,38 \pm 0,321 ^a	20,59 \pm 0,245 ^a					
Minggu ke-3				Minggu ke-4			
pH	Suhu		Rata-rata \pm SD	pH	Suhu		
	4 \pm 2 $^\circ$ C	28 \pm 2 $^\circ$ C			4 \pm 2 $^\circ$ C	28 \pm 2 $^\circ$ C	
4	19,38 \pm 0,47 ^a	18,20 \pm 0,04 ^b		4	19,30 \pm 0,16 ^a	17,12 \pm 0,15 ^c	
7	10,52 \pm 0,33 ^d	16,92 \pm 0,07 ^c		7	17,72 \pm 0,32 ^b	17,10 \pm 0,39 ^c	
10	18,48 \pm 0,40 ^b	10,84 \pm 0,33 ^d		10	10,72 \pm 0,11 ^d	9,70 \pm 0,35 ^e	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan pada masing-masing perlakuan

Persentase nilai kemerahan (a^*) ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. selama penyimpanan pada masing-masing perlakuan mengalami penurunan setiap minggunya. Nilai kemerahan ekstrak *Gracilaria* sp. menurun seiring dengan penurunan kadar fikokserin setiap minggunya. Pada minggu ke-1 nilai kemerahan ekstrak *Gracilaria* sp. tidak mengalami perbedaan pada perlakuan pH dan perlakuan suhu. Pada minggu ke-2 perlakuan pH 4 pada 28 \pm 2 $^\circ$ C tidak berbeda nyata dengan

perlakuan pH 4 dan 7 pada suhu 4 \pm 2 $^\circ$ C, tetapi berbeda nyata pada perlakuan pH 10 pada suhu 28 \pm 2 $^\circ$ C. Pada minggu ke-3 dan 4 nilai kemerahan (a^*) mengalami perbedaan pada setiap perlakuannya dan perlakuan pH 10 pada suhu 28 \pm 2 $^\circ$ C memiliki nilai kemerahan terkecil. Hal ini sesuai dengan penelitian Yulianti *et al.* (2015) bahwa semakin besar nilai tingkat kemerahan (a^*) menunjukkan kecenderungan warna yang semakin merah dan sebaliknya, semakin kecil nilai tingkat

kemerahan menunjukkan kecenderungan warna yang semakin hijau. Maka semakin tinggi nilai kemerahan akan menghasilkan pewarna alami yang semakin baik. Nilai kemerahan (a^*) yang tinggi menunjukkan bahwa kadar pigmen fikokserin stabil pada penyimpanan tersebut. Perlakuan pH 10 pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ menunjukkan penurunan nilai kemerahan (a^*) terbesar dibanding dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 53,04%. Hal ini menunjukkan bahwa pigmen fikokserin pada ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. tidak stabil pada perlakuan tersebut.

Tingkat Kekuningan (b^*)

Nilai kekuningan minggu ke-0 pada

ekstrak pewarna dari alga merah *Gracilaria* sp. yang diperoleh adalah sebesar 11,30. Analisis ragam untuk nilai kekuningan (b^*) menunjukkan bahwa perlakuan pH berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-2, 3 dan 4 serta berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1. Perlakuan suhu berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-2, 3 dan 4 serta berpengaruh tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1. Interaksi kedua perlakuan berpengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) pada minggu ke-2, 3 dan 4 serta tidak nyata ($p > 0,05$) pada minggu ke-1. Rata-rata nilai kekuningan (b^*) ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. tiap minggunya dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata nilai kekuningan (b^*) ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. dan laju kenaikan nilai kekuningan pada perlakuan pH dan suhu penyimpanan pada minggu ke-1 sampai minggu ke-4

Minggu ke-1				Minggu ke-2			
pH	Suhu		Rata-rata \pm SD	pH	Suhu		
	$4 \pm 2^\circ$	$28 \pm 2^\circ\text{C}$			$4 \pm 2^\circ\text{C}$	$28 \pm 2^\circ\text{C}$	
4	11,44	11,64	$11,545 \pm 0,132^a$	4	$11,52 \pm 0,13^b$	$11,78 \pm 0,25^b$	
7	11,57	11,52	$11,545 \pm 0,227^a$	7	$11,55 \pm 0,40^b$	$11,81 \pm 0,20^b$	
10	11,52	12,02	$11,777 \pm 0,360^a$	10	$11,44 \pm 0,12^b$	$13,70 \pm 0,23^a$	
Rata-rata \pm SD	$11,52 \pm 0,167^a$	$11,73 \pm 0,312^a$					
Minggu ke-3				Minggu ke-4			
pH	Suhu			pH	Suhu		
	$4 \pm 2^\circ\text{C}$	$28 \pm 2^\circ\text{C}$			$4 \pm 2^\circ\text{C}$	$28 \pm 2^\circ\text{C}$	
4	$11,60 \pm 0,10^c$	$12,30 \pm 0,04^{bc}$		4	$11,71 \pm 0,07^e$	$13,04 \pm 0,44^c$	
7	$12,04 \pm 0,24^c$	$12,82 \pm 0,67^b$		7	$12,60 \pm 0,22^d$	$14,11 \pm 0,16^b$	
10	$12,40 \pm 0,13^{bc}$	$14,47 \pm 0,19^a$		10	$13,04 \pm 0,10^c$	$15,54 \pm 0,03^a$	

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda pada kolom dan baris yang sama menunjukkan berbeda nyata ($P < 0,05$). Data merupakan rata-rata dari tiga ulangan pada masing-masing perlakuan

Persentase nilai kekuningan (b^*) ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. selama penyimpanan pada masing-masing perlakuan mengalami kenaikan setiap minggunya. Nilai kekuningan meningkat seiring dengan penurunan kadar fikokserin pada setiap minggunya. Pada minggu ke-1 tidak terjadi perubahan pada perlakuan pH dan suhu tetapi pada pH 10 memiliki tingkat kekuningan yang tertinggi. Pada minggu ke-2, ke-3 dan ke-4 perlakuan pH 10 pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$ mengalami perbedaan nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan pH 10 pada suhu $28 \pm 2^\circ\text{C}$

menunjukkan kenaikan nilai kekuningan (b^*) terbesar dibanding dengan perlakuan lainnya yaitu sebesar 27,18%. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. tidak stabil pada perlakuan tersebut. Hal ini sesuai dengan penelitian Naga *et al.* (2010) dan Kawsar *et al.* (2011) yang menyatakan bahwa pigmen fikokserin akan mengalami perubahan warna karena denaturasi protein pada saat keadaan pH dibawah dari 3 dan lebih dari 10.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Perlakuan pH dan suhu sangat berpengaruh pada setiap minggunya terhadap stabilitas ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. sebagai pewarna alami. Perlakuan pH sangat berpengaruh terhadap kadar total fikoeritrin, tingkat kecerahan (L^*), tingkat kemerahan (a^*) dan tingkat kekuningan (b^*) pada minggu ke-2, 3, 4. Perlakuan suhu sangat berpengaruh terhadap kadar total fikoeritrin dan tingkat kecerahan (L^*) pada minggu ke-3 dan 4, serta tingkat kemerahan (a^*), dan tingkat kekuningan (b^*) pada minggu ke-2, 3, dan 4. Pada minggu ke-1 dan ke-2 kadar fikoeritrin masih sama baik pada pH 4 dan pH 7 tetapi mulai berbeda pada minggu ke-4. Tingkat kecerahan, tingkat kemerahan dan tingkat kekuningan pada pH 4 dan pH 7 tidak berbeda pada minggu ke-1 dan ke-2 tetapi terjadi perbedaan pada minggu ke-3.
2. Perlakuan pH 4 dan suhu dingin ($4 \pm 2^\circ\text{C}$) merupakan perlakuan terbaik untuk mempertahankan stabilitas ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. sampai pada minggu ke-4 karena memiliki penurunan kadar fikoeritrin dan tingkat kemerahan (a^*) terkecil, serta memiliki kenaikan tingkat kecerahan (L^*) dan tingkat kekuningan (b^*) terkecil. Persentase penurunan kadar fikoeritrin, kenaikan nilai kecerahan (L^*), penurunan nilai kemerahan (a^*) dan kenaikan nilai kekuningan (b^*) berturut-turut adalah 13,04%, 0,47%, 6,58%, dan 3,50%.

Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai perubahan struktur senyawa fikoeritrin akibat degradasi dan perlu

dilakukan analisis senyawa yang dihasilkan dari proses degradasi ekstrak alga merah *Gracilaria* sp. selama penyimpanan.

2. Ekstrak pewarna dari alga merah *Gracilaria* sp. sebaiknya disimpan pada penyimpanan suhu dingin dan sebaiknya diaplikasikan pada produk yang memiliki karakteristik pH asam.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, T. W. 2013. Penentuan total antosiani dari kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan metode maserasi dan soxletasi. *Jurnal sains dan matematika*. 8 (2): 167 – 177.
- Alamsjah, M., N. O. Ayuningtiaz, dan S. Subekti. 2010. Pengaruh lama penyinaran terhadap pertumbuhan dan klorofil *Gracilaria verrucosa* pada sistem budidaya *indoor*. *Jurnal ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 2 (1): 21–29.
- Claire, C. 1992. De la création d'une banque de données sur la composition biochimique des algues aux résultats d'une investigation systématique: un colorant naturel stable issu d'une Rhodophycée. PhD Thesis. Université de Nantes, Nantes.
- D'Agnolo, E., E. Murano., R. Rizzo., and S. Paoletti. 1993. A biliprotein from the red alga *Gracilaria longa*: Thermal stability of R-phycoerythrin. *Italian Journal of Biochemistry*. 42: 316 – 318.
- Galland-Irmouli, A.-V. Pons., L. Lucon., M. Villaume., C. Mrabet., N. T. Gueant., 2000. One step purification of R-phycoerythrin from the red macroalga *Palmaria palmate* using preparative polyacrylamide gel electrophoresis.

- Journal of Chromatography B. 739: 117 – 123.
- Gaman, P.M., dan K. B Sherington. 1992. Ilmu Pangan: Pengantar Ilmu Pangan, Nutrisi, dan Mikrobiologi. Gardjito, M. (Penerjemah) dan Kasmidjo, R.B. (Penyunting). Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Gross, J. 1991. Pigment in Vegetables (Chlorophylls and Carotenoids). Van Nostrand Reinhold, New York.
- Indrayati, F., R. Utami, dan E. Nurhartadi. 2013. Pengaruh penambahan minyak atsiri kunyit putih (*Kaempferia rotunda*) pada edible coating terhadap stabilitas warna dan pH fillet ikan patin yang disimpan pada suhu beku. Jurnal Teknosains Pangan. 4 (2): suhu beku. Jurnal Teknosains Pangan. 4 (2): 25 – 31.
- Indriyani, N. M. D., N. M. Wartini, dan N. P. Suwariani. 2018. Stabilitas karotenoid ekstrak pewarna buah pandan (*Pandanus tectorius*) pada suhu dan pH awal penyimpanan. Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri. 6 (3): 211–217.
- Karseno., I. Handayani., R. Setyawati. 2013. Aktivitas dan stabilitas antioksidan ekstrak pigmen alga *Oscillatoria* sp. Agritech. 33 (4): 371 – 376.
- Kawsar, S. M., Y. Fujii, R. Matsumoto, H. Yasumitsu, and Y. Ozeki. 2011. Protein R-phycoerythrin from marine red alga *Amphiroa anceps*: extraction, purification and characterization. *Phytologia balcanica*. 17 (3): 341 – 354.
- Liu, L. N., H. N. Su., S. G. Yang., S. M. Shao., B. B. Xhie., X. L. Chen. 2009. Probing the pH sensitivity of R-phycoerythrin: Investigations of active conformational and functional variation. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1797 (7): 939 – 946.
- Naga, W. S., B. Adiguna, E. S. Retnoningtyas, dan A. Ayucitra. 2010. Koagulasi protein dari ekstrak biji kecipir dengan metode pemanasan. Jurnal ilmiah Widya Teknik. 9 (1): 1–11.
- Niu, J. F., G. C. Wang, and C. K. Tseng. 2006. Method for large scale isolation and purification of r-phycoerythrin from red alga *Polysiphonia erceolata* grev. *Journals Protein Expression and Purification*. 49 (1): 23–31.
- Orta-Ramirez, A., J. E. Merrill., and D. M. Smith. 2000. pH affects the thermal inactivation parameters of R-phycoerythrin from *Porphyra yezoensis*. *Journal of Food Science*. 65 (6): 1046 – 1050.
- Romay, C. 2000. Phycocyanin is an antioxidant protector of human erythrocytes against lysis by peroxy radicals. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 52 (4): 367–368.
- Rossnano, R., N. Ungaro., A. D’Ambrosio., and P. Riccio. 2003. Extracting and purifying R-phycoerythrin from Mediterranean red algae *Corallina elongata* Ellis & Solander. *Journal of Biotechnology*. 101: 289 – 293.
- Sajilata dan Singhal, 2006. Isolation and Stabilisation of Natural Pigments for Food Application. *Stewart Postharvest Review*. 2 (5): 5 – 11.
- Septiana, A. T., dan A. Asnani. 2012. Kajian sifat fisikokimia ekstrak rumput laut coklat *Sargassum duplicatum* menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi. *Agointek*. 6 (1): 22–28.
- Siegelman, H. W., and H. J. Kycia. 1978.

- Algal Biliproteins: Handbook of Phycological Method. Cambridge Press, Cambridge
- Silveira, S. T., J. F. M. Bukerts, J. A. V. Costa, C. A. V. Burkert, and S. J. Kalil. 2007. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresource Technology*. 98: 1629–1634.
- Sudhakar, M. P., M. Saraswathi, and B. B. Nair. 2014. Extraction, purification and application study of R-Phycocerythrin from *Gracilaria corticala* (J. Agardh) J. Agardh var. *Corticata*. *Indian Journal of Natural Products and Resources*. 5 (4): 371–374.
- Suhartono, T. S., dan S. L. Angka. 2000. *Bioteknologi Hasil Laut*, Bogor: Pusat kajian sumber daya pesisir dan lautan. Institut Pertanian Bogor. 49 – 56.
- Weaver, C. 1996. *The Food Chemistry Laboratory*. CRS Press, New York.
- Yulianti, Y.W., M.A. Alamsjah dan P.H. Riesta. 2015. Pigmen rumput laut merah (*Acanthopora spicifera*) sebagai alternatif pewarna alami pada produk sosis ikan lele dumbo (*Clarias gariepinus*). *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*. 7 (1): 47 – 5.