

## KARAKTERISTIK EKSOPOLISAKARIDA MIKROALGA *Porphyridium cruentum* YANG BERPOTENSI UNTUK PRODUKSI BIOETANOL

**Alwahidul Mubarak\*, Iriani Setyaningsih, Uju**

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan,

Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Bogor 16680

Telepon (0251) 8622915 Faks.(0251) 8622916

\*Korespondensi: aal.surplus@gmail.com

Diterima: 28 Desember 2017/ Disetujui: 21 Maret 2018

**Cara sitasi:** Mubarak A, Setyaningsih I, Uju. 2018. Karakteristik eksopolisakarida mikroalga *Porphyridium cruentum* yang berpotensi untuk produksi bioetanol. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 21(1): 24-34.

### Abstrak

*Porphyridium cruentum* merupakan salah satu mikroalga yang memiliki kandungan polisakarida yang tinggi dan mampu menghasilkan polisakarida ekstraseluler dengan jumlah mencapai 19,7 g/L. Mikroalga tidak mengandung lignin sebagai pelindung dinding selnya, sehingga berpotensi sebagai bahan produksi bioetanol. Kendala yang dihadapi untuk mendapatkan eksopolisakarida *P. cruentum* yaitu pada tahap pemanenan, pemisahan eksopolisakarida dari media kultivasi. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan metode pemanenan eksopolisakarida *P. cruentum* dengan bahan presipitasi yang berbeda untuk mendapatkan metode alternatif yang lebih baik, serta menentukan metode hidrolisis terbaik untuk menghasilkan gula tertinggi. Penelitian dilakukan dengan tiga tahap terdiri dari kultivasi mikroalga, pemanenan dan karakterisasi eksopolisakarida, serta hidrolisis eksopolisakarida. Metode kultur menggunakan perlakuan fotoperiod 12 jam gelap 12 jam terang. Kultur *P. Cruentum* dipresipitasi dengan etanol 96% perbandingan 1:0,75 (v/v) dan KOH 5% perbandingan 1:1,5 (v/v). Polisakarida dihidrolisis dengan HCl 2 N dan akuades (suhu 100°C, selama 3 jam). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar air eksopolisakarida presipitasi dengan etanol 96% yaitu 12,70%, abu 59,68%, viskositas 76,8 Cp, rendemen 1,4 g/L dan eksopolisakarida hasil presipitasi dengan KOH 5% dengan kadar air 5,28%, abu 78,61% viskositas 134,4 cP, rendemen 6,1 g/L. Monosakarida yang terdeteksi adalah fruktosa. Hidrolisis menggunakan HCl 2 N, suhu 100°C selama 3 hari merupakan metode hidrolisis eksopolisakarida terbaik dengan kadar gula total tertinggi yaitu 24,31%

Kata kunci : bioetanol, eksopolisakarida, hidrolisis asam, *Porphyridium cruentum*

### ***Characterization of Exopolysaccharide from Microalgae *Porphyridium cruentum* which has Potential for Bioethanol Feedstock***

#### Abstract

*Porphyridium cruentum* is one of the single cell microalgae which has high polysaccharide content and it can produce extracellular polysaccharides up to 19,7 g/L. Microalgae has no lignin covering of its cell wall, therefore it is potential as a bioethanol feedstock. The obstacle to obtain an exopolysaccharides from *P.cruentum* is harvesting stage, separating exopolysaccharides from culturing media. The purposes of this study were to compare harvesting of *P.cruentum* exopolysaccharide using different precipitant, to obtain the best precipitant, and to determine the best acid hydrolysis method to produce the highest sugar. This research was conducted in three stages, microalgae cultivation; harvesting and characterization of exopolysaccharides; and acid hydrolysis of exopolysaccharides. The cultivation method was carried out using photoperiod treatment 12 hours dark 12 hours light. *P. cruentum* exopolysaccharide was harvested by precipitation using 96% ethanol with a ratio of 1 : 0,75 v/v and 5% KOH with a ratio of 1 : 1,5 v/v. The xopolysaccharide was hydrolyzed with 2 N of HCl or distilled water (temperature 100°C, for 3 hours). Precipitated exopolysaccharide using ethanol 96% and KOH 5% contained moisture of 12,70% and 5,28%; ash of 59,68% and 78,61%; viscosity of 76,8 and 134,4 cP, respectively. Monosaccharide detected was fructose. The exopolysaccharide yield precipitated with KOH 5% (6,1 g/L) was higher than that of ethanol 96% (1,4 g/L). Hydrolysis using HCl 2 N (100°C, for 3 hours) was the best method with total sugar content was 24,31%.

**Keywords :** bioethanol feedstock, exopolysaccharides, hydrolysis, *Porphyridium cruentum*

## PENDAHULUAN

Mikroalga menjadi salah satu jenis bahan yang sangat potensial digunakan sebagai bioetanol, karena memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam waktu yang relatif singkat, bisa dikembangkan pada area yang terbatas, serta beberapa jenis mikroalga memiliki kandungan karbohidrat yang tinggi. Spolaore *et al.* (2006) menyatakan bahwa biomasa kering *Porphyridium cruentum* mengandung karbohidrat sebanyak 40-57%. *Porphyridium cruentum* juga menghasilkan polisakarida ekstraseluler hingga 19,7 g/L (Kusmiati dan Agustini 2009). Patel *et al.* (2013) melaporkan bahwa polisakarida ekstraseluler *P. cruentum* mengandung empat monosakarida yaitu galaktosa 40%, xilosa 30%, glukosa 20%, dan asam glukoronik sebesar 10%.

Bioetanol memiliki kegunaan yang cukup luas di bidang farmasi hingga bahan bakar, oleh sebab itu bioetanol memiliki nilai guna yang sangat penting. Ketersediaan bioetanol saat ini belum optimal, terlebih untuk kebutuhan bahan bakar yang masih menggunakan sumber daya yang tidak dapat diperbaharui. Hal ini mengkhawatirkan, karena renstra Kementerian ESDM tahun 2015-2019 melaporkan bahwa bahan-bahan tersebut akan habis pada kurun waktu 10 hingga 20 tahun lagi (KESDM 2015).

Sumber-sumber baru terus dicari dan dikembangkan guna menghasilkan bioetanol dari bahan-bahan alternatif yang mengandung karbohidrat, di antaranya bahan-bahan yang mengandung gula atau pati dan biomasa. Kebutuhan pangan yang tinggi, menjadikan bahan-bahan bergula atau berpati lebih diutamakan untuk kebutuhan pangan dari pada kebutuhan bahan bakar. Kendala yang dihadapi dalam penggunaan biomasa sebagai bahan untuk produksi bioetanol adalah biaya yang tinggi pada proses penghilangan lignin yang menjadi penghalang untuk hidrolisis dan fermentasi. *Porphyridium cruentum* berpotensi sebagai sumber alternatif karena tidak mengandung lignin. Arad dan Levy-Ontman (2010) menyatakan bahwa *P. cruentum* merupakan salah satu mikroalga merah bersel tunggal yang tidak memiliki komponen selulosa

mikrofibril, namun dinding selnya dibungkus dengan polisakarida sulfat yang membentuk gel, serta memiliki polisakarida ekstraseluler yang mudah diekstrak.

Kendala yang dihadapi untuk mendapatkan eksopolisakarida *P. cruentum* yaitu pemisahan eksopolisakarida dari media. Pemisahan eksopolisakarida dari *P. cruentum* dapat dilakukan dengan menggunakan etanol (Patel *et al.* 2013; Setyaningsih *et al.* 2013). Metode ini kurang efisien bila digunakan untuk produksi masal, karena biaya yang tinggi, sehingga perlu dicari bahan alternatif. Bahan yang bisa digunakan untuk memisahkan eksopolisakarida dari kultur antara lain menggunakan alkali, salah satunya KOH. Prasetyo *et al.* (2016) melaporkan bahwa KOH bisa digunakan untuk memisahkan eksopolisakarida.

Produksi bioetanol menggunakan eksopolisakarida *P. cruentum* belum pernah dilakukan, oleh karena itu perlu dilakukan kajian awal mengenai karakteristik eksopolisakarida *P. cruentum* yang dipresipitasi dengan presipitan berbeda sebagai bahan untuk produksi bioetanol. Tujuan dari penelitian ini adalah membandingkan penggunaan bahan presipitasi yang berbeda pada pemanenan eksopolisakarida *P. cruentum* untuk ditentukan karakteristik masing-masing, serta menentukan metode hidrolisis asam terbaik untuk menghasilkan gula tertinggi sebagai bahan baku produksi bioetanol.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah mikroalga *P. cruentum* koleksi kultur Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanografi LIPI Ancol dan ditumbuhkan di Laboratorium Bioteknologi Hasil Perairan Departemen THP Institut Pertanian Bogor. Bahan-bahan kimia yang digunakan dalam pembuatan media kultivasi adalah media modifikasi Guilard F/2 yang terdiri atas NaNO<sub>3</sub> (Merck), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck), FeCl<sub>2</sub> (Merck), Na(II)-EDTA (Merck), CuSO<sub>4</sub> (Merck), ZnSO<sub>4</sub> (Merck), NaMoO<sub>4</sub> (Merck), CoCl<sub>2</sub> (Merck), MnCl<sub>2</sub> (Merck) dan Vitamin B kompleks Neurobion

5.000 (Merck), masing-masing bahan dilarutkan pada 100 mL akuades. Bahan kimia lain yang digunakan adalah etanol 96% (Merck), NaOH 2 N (Merck), HCl 2 N (Merck), KOH 5% (Merck), H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Merck).

Alat yang digunakan meliputi peralatan gelas (pirex), mikropipet 100-1.000 µL, toples kaca ukuran 500 mL, 2 L, dan 10 L, sentrifus, lampu TL40 watt (Hannoch), timer (24 Hour Time Switch Intra), spektrofotometer (Spectro UV-VIS 2500), aerator (AP 500), mikroskop cahaya (Olimpus), oven (Yamato DV 41) dan neraca (Sartorius TE214S), *vortex*, *hot plate*, otoklaf (Yamato SM 52), inkubator, oven (Yamato SH 62), *furnace*, desikator, ruang laminar, *waterbath*, spektrometer UV/VIS Perkin Elmer (Yamato), pH meter (Thermo), dan UFLC (Shimadzu).

### Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam tiga tahap, yaitu 1) kultivasi mikroalga, untuk menghasilkan biomasa dengan kandungan eksopolisakarida terbanyak; 2) pemanenan dan karakterisasi eksopolisakarida, untuk mendapatkan eksopolisakarida tertinggi menggunakan bahan presipitasi berbeda; 3) hidrolisis eksopolisakarida, untuk mendapatkan hidrolisat dengan kandungan gula tertinggi.

### Kultivasi *Porphyridium cruentum*

Kultivasi dimulai dari tahap penyegaran kultur selama 7 hari dalam erlemenyer menggunakan media *Guillard*. Volume kultur untuk penyegaran adalah 500 mL dengan inokulum sebanyak 20% (v/v). Penyegaran stok mikroalga dilakukan dalam keadaan aseptik pada suhu ruang menggunakan lampu neon dengan intensitas cahaya 2.000–2300 lux sebagai sumber cahaya, dan dilengkapi dengan aerasi terus-menerus. Tahap kultivasi diperbesar dengan menggunakan toples kaca kapasitas 2 L selama 7 hari, kemudian dilakukan *scale up* dari kultur 2 L menjadi 10 L selama 40 hari dengan perlakuan fotoperiod 12 : 12 jam (terang : gelap) (Prasetyo *et al.* 2016) dan dilakukan pengukuran kepadatan sel menggunakan spektrofotometer  $\lambda$ 760 serta penghitungan jumlah sel menggunakan haemositometer.

### Pemisahan Eksopolisakarida

Pemisahan eksopolisakarida dilakukan dengan cara dipresipitasi menggunakan 2 bahan presipitasi berbeda. Kultur *P. cruentum* dipresipitasi menggunakan etanol 96%(1:0,75 v/v) (Setyaningsih *et al.* 2013) dan KOH 5% (1:1,5 v/v) (Prasetyo *et al.* 2016). Eksopolisakarida disaring dan dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 12 jam. Eksopolisakarida kering dianalisis kadar air (AOAC 2007), kadar abu (BSN 1992), kadar gula total (Dubois *et al.* 1965), viskositas (Garesh 2002), rendemen, gugus fungsi (ASTM 2013), dan jenis monosakarida (Arad *et al.* 1985).

### Eksopolisakarida hidrolisis

Proses hidrolisis eksopolisakarida menggunakan 2 bahan penghidrolisis berbeda, yaitu HCl 2 N dan akuades (Patel *et al.* 2013). Eksopolisakarida sebanyak 1 mg ditambahkan 10 mL asam, kemudian dipanaskan pada suhu 100°C selama 3 jam. Hidrolisat eksopolisakarida dianalisis kandungan gula total menggunakan metode fenol sulfat, bertujuan untuk mengetahui kemampuan masing-masing asam dalam menghidrolisis substrat.

### Pengukuran viskositas

Eksopolisakarida dilarutkan dalam akuades dengan konsentrasi 0,25% (b/v), kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer plus heater* dengan suhu 50°C selama 30 menit hingga larutan homogen. Viskositas diukur menggunakan viskometer *Toki Sangyo TV-10* dengan *spindle* M2 no 18 pada kecepatan 50 rpm (modifikasi Geresh *et al.* 2002). Nilai viskositas yang terukur dinyatakan dalam satuan cP (Centipoise).

### Penentuan kandungan gula total metode fenol sulfat

Penentuan gula total didasarkan pada metode fenol sulfat (Dubois *et al.* 1956), sebelum melakukan pengujian sampel maka perlu diketahui kurva standar fenol yang digunakan. Kurva standar fenol disiapkan dengan melarutkan 2 mL larutan glukosa standar pada konsentrasi 0, 10, 20, 30, 40, 50

dan 60 mg/L. Larutan glukosa dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL larutan fenol 5%, kemudian dikocok. Asam sulfat (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) pekat sebanyak 5 mL ditambahkan dengan cepat, dibiarkan selama 10 menit, kemudian dikocok lalu tempatkan dalam penangas air selama 15 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 490 nm dengan menggunakan spektrofotometer. Tahapan yang dilakukan pada pengujian sampel sama dengan pembuatan kurva standar fenol, dengan cara menggantikan 2 mL larutan glukosa dengan 2 mL sampel.

### Analisis gugus fungsi

Gugus fungsi dari eksopolisakarida dideteksi dengan *Fourier Transformed Infrared* (FTIR) mengacu pada (Mishra dan Jha 2009). Pelet untuk analisis FTIR diperoleh dengan memasukkan 200 mg KBr dan 2 mg sampel ke dalam mortar serta dicampurkan sampai homogen. Sampel dipadatkan dan dimasukkan ke dalam Tensor 37. Pengukuran sampel uji dilakukan pada bilangan gelombang antara 4.000-500 cm<sup>-1</sup>. Spektra FTIR yang dihasilkan menunjukkan puncak-puncak serapan bilangan gelombang dari sampel uji. Gugus-gugus fungsi sampel uji ditentukan berdasarkan puncak serapan bilangan gelombang yang terdeteksi.

### Analisis monosakarida

Analisis monosakarida mengacu pada Patel *et al.* (2013) yang dimodifikasi. Eksopolisakarida 0,1 g dihidrolisis dengan 2 N HCl 10 mL selama 3 jam pada suhu 100°C.

Hidrolisat eksopolisakarida dinetralkan dengan NaOH 2 N dan difiltrasi menggunakan *sartorius single use filter unit* dengan ukuran 0,45 nm. Komposisi monosakarida ditentukan dengan *Ultra Fast Liquid Chromatography* (UFLC). Area puncak diperkirakan sebagai komposisi monomer.

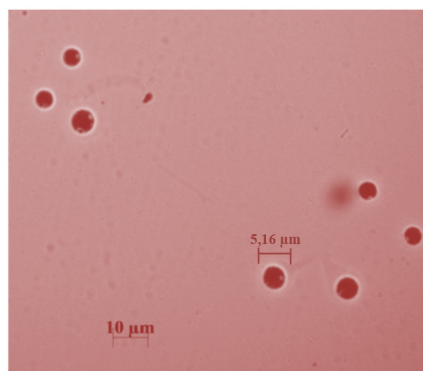
### Analisis struktur partikel

Analisis struktur partikel eksopolisakarida *P. cruentum* menggunakan metode *Scanning Electron Microscopy* (SEM). Sampel sebanyak 0,2 g disebar pada piringan metal-silinder dengan pita karbon dan dilapisi dengan emas dibawah vakum. Karakterisasi mikroskop dilakukan dengan menggunakan instrumen *Scanning Electron Microscopy* (SEM) yang dioperasikan pada 14 kV tegangan percepatan.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Karakteristik *P. cruentum*

*Porphyridium cruentum* yang dikultur pada media *Guillard* dipanen pada umur 40 hari memiliki nilai pH 7,27, dengan nilai OD 0,935. Djemai-Zoghache *et al.* (2011) melaporkan kepadatan sel *Porphyridium purpureum* yang dikultivasi dengan fotoperiode 12:12 jam mencapai nilai OD hingga 1 pada umur 40 hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sel *P. cruentum* berwarna merah terang. Kusmiyati dan Agustini (2006) menyatakan bahwa warna merah terang pada *P. cruentum* disebabkan oleh keberadaan fikoeritrin sebagai pigmen yang dominan. Sel berbentuk bulat dengan diameter mencapai 5,16 µm (Gambar 1), hasil ini identik seperti



Gambar 1 *P. cruentum* hari ke-40 kultur  
(Figure 1 Cells of *P. cruentum* at day 40)

yang dilaporkan oleh Prasetyo *et al.* (2016).

Nilai viskositas media kultivasi pada umur 40 hari adalah 7,83 cp. Hasanah (2016) melaporkan bahwa nilai viskositas *P.cruentum* pada umur 40 hari sebesar 7,97 cp. Arad dan Levy-Ontman (2010) menyatakan bahwa nilai viskositas sangat dipengaruhi oleh jumlah eksopolisakarida yang dilepaskan ke medium, semakin banyak jumlah polisakarida yang dikeluarkan ke dalam medium, maka akan menghasilkan viskositas yang lebih tinggi, karena pembungkus dinding sel mikroalga merah merupakan polisakarida sulfat yang membentuk gel, polisakarida sulfat tersebut akan dikeluarkan ke dalam medium selama pertumbuhannya.

**Karakteristik Eksopolisakarida *P. cruentum***

**Rendemen, kadar abu dan air eksopolisakarida**

Rendemen, kadar abu dan kadar air eksopolisakarida kering dapat dilihat pada (Tabel 1). Bahan presipitasi memengaruhi rendemen eksopolisakarida yang dihasilkan. Presipitasi dengan KOH 5% menghasilkan rendemen 4 kali lebih tinggi dibandingkan dengan etanol 96%.

Zulfriady dan Sudjatmiko (1995) melaporkan bahwa penggunaan KOH berpengaruh terhadap kenaikan rendemen dan mutu karaginan yang dihasilkan. Rendemen yang dihasilkan lebih tinggi dari hasil penelitian Prasetyo *et al.* (2016). Eksopolisakarida yang diproduksi oleh sel *P. cruentum* dipengaruhi faktor pertumbuhan dan lingkungan. Singh *et al.* (2000) menyatakan bahwa *P. cruentum* yang ditumbuhkan pada musim dingin akan memproduksi polisakarida berkisar 200 hingga 1.000 mg/L.

Perlakuan penambahan alkali mampu meningkatkan ekstraksi polisakarida menjadi sempurna (Mustamin 2012). Kemampuan gugus H<sup>+</sup> dari alkali yang bereaksi dengan gugus OH<sup>-</sup> eksopolisakarida membentuk polimer *anhydrous* galaktosa sehingga menghasilkan eksopolisakarida lebih banyak (Uy *et al.* 2005). Hal ini sesuai dengan pernyataan (Ega *et al.* 2016) bahwa perlakuan penambahan konsentrasi KOH berpengaruh nyata terhadap kadar karbohidrat rumput laut *Euchema cottonii*. Hasil eksopolisakarida kering dengan ekstraksi menggunakan KOH 5% dan etanol 96% dapat dilihat pada Gambar 2.

Tabel 1 Kadar Air, abu dan rendemen eksopolisakarida kering *P.Cruentum* (Table 1 Moisture, ash and yield of *P. Cruentum* exopolysaccharide)

Parameter	Bahan precipitation/Precipitation materials	
	KOH 5%	Ethanol 96%
Kadar air/Moisture (%)	5.28±0.28	12.70±1.02
Kadar abu/Ash (%)	78.67±1.19	59.68±0.93
Rendemen/Yield (g/L)	6.10±0.24	1.40±0.06



(a)



(b)

Gambar 2 Eksopolisakarida kering presipitasi etanol (a) dan presipitasi KOH (b). (Figure 2 Dried exopolysaccharides with ethanol precipitation (a) and KOH precipitation (b))

Kadar abu mengindikasikan adanya kandungan mineral pada bahan. Kadar abu pada eksopolisakarida *P. cruentum* adalah sebesar 78,67% (presipitasi dengan KOH 5%) dan 59,68% (presipitasi dengan etanol 96%), hasil ini cenderung lebih tinggi dibandingkan dengan mikroalga air laut lainnya. Setthamongkol *et al.* (2015) melaporkan bahwa *Caulerpa lentifiliera* yang ditumbuhkan pada media F/2 dan dipanen dengan pencucian air tawar memiliki kadar abu yang lebih rendah yaitu sebesar 47,80%.

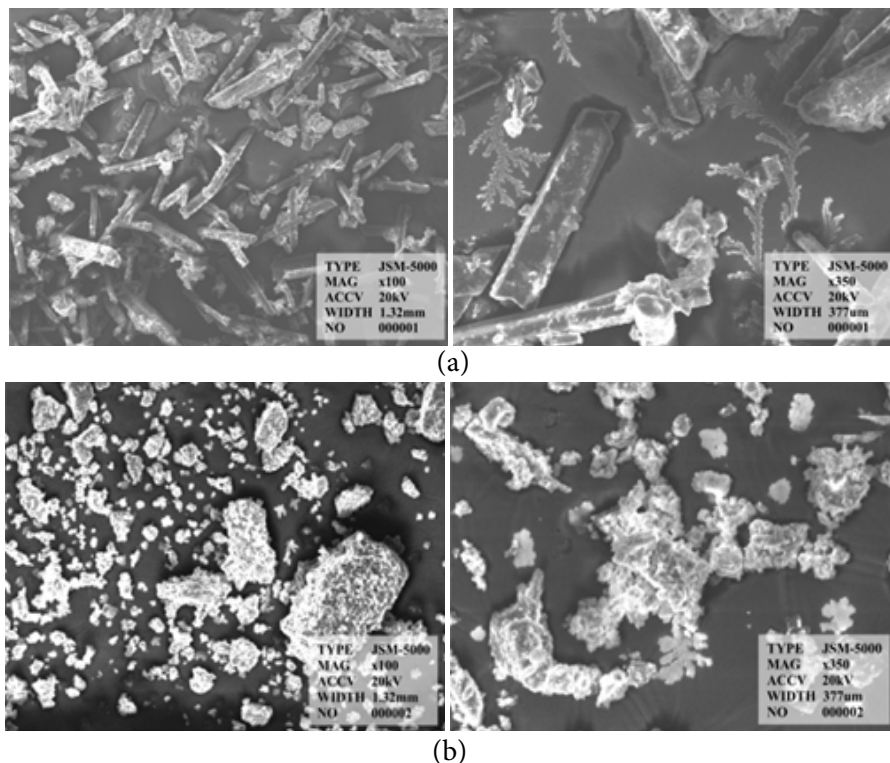
*P. cruentum* dikultivasi menggunakan air laut yang diikuti dengan penambahan mineral tertentu, hal ini menyebabkan salinitas menjadi tinggi. Hal ini didukung dengan pernyataan Selco *et al.* (2003) bahwa air laut mengandung berbagai komponen mineral diantaranya  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $(\text{SO}_4^{2-})$ , dan  $\text{Br}^-$ .

Kadar air dalam bahan menunjukkan hasil yang berbeda antara eksopolisakarida presipitasi dengan KOH 5% dan etanol

96%. Presipitasi dengan KOH terdeteksi memiliki kadar air lebih sedikit dibandingkan presipitasi dengan etanol (Tabel 1). Hal ini disebabkan oleh KOH memiliki sifat higroskopis dan eksotermik, yaitu mampu mengeluarkan panas, sehingga menyebabkan air lebih banyak menguap (Romenda *et al.* 2013). Kadar air presipitasi dengan etanol 96% identik dengan hasil penelitian Hasanah (2016) yang melaporkan bahwa kadar air eksopolisakarida presipitasi dengan etanol 96% adalah sebesar 13,83 hingga 14,68 %.

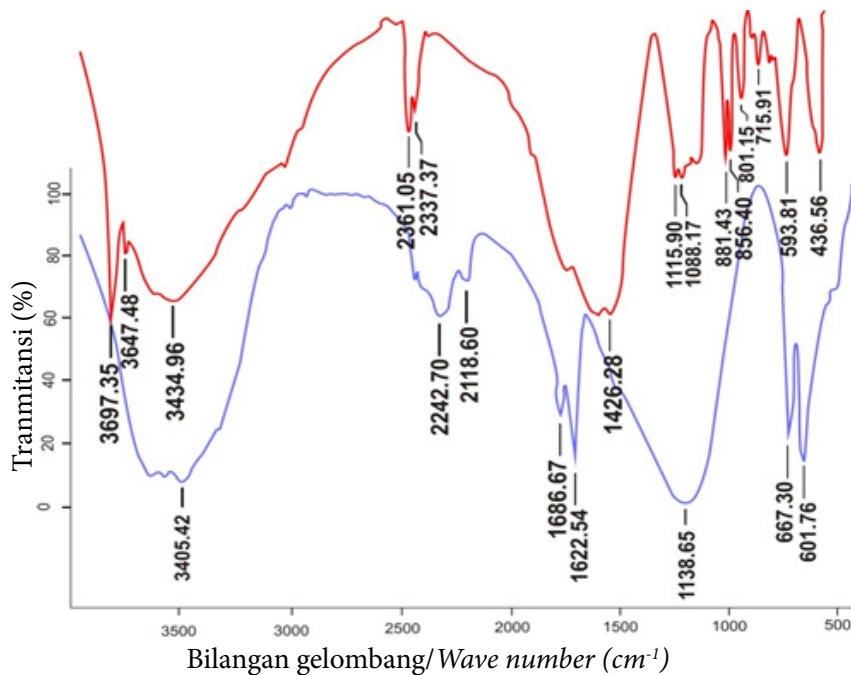
### Struktur partikel eksopolisakarida

Hasil mikroskop elektron eksopolisakarida *P. cruentum* menunjukkan bahwa permukaan pada masing-masing bahan pada perbesaran 100x dan 350x memiliki perbedaan (Gambar 3). Eksopolisakarida hasil presipitasi menggunakan etanol 96% memiliki kenampakan yang berbentuk batang, berbeda dengan eksopolisakarida hasil presipitasi dengan KOH 5%



Gambar 3 Struktur partikel eksopolisakarida *P. cruentum* presipitasi dengan etanol 96% (a) dan KOH 5% (b).

(Figure 3 Structure of *P. cruentum* exopolysaccharide after precipitation with 96% ethanol (a) and KOH 5% (b))



Gambar 4 Spektrum IR eksopolisakarida *P. cruentum* yang dipresipitasi dengan KOH 5% (a) dan etanol 96% (b).

Figure 4 IR spectrum of precipitated *P. cruentum* exopolysaccharide with KOH 5% (a) and ethanol 96% (b).

yang sebagian besar memiliki ukuran lebih kecil dan lebih halus.

Filamen pada hasil SEM eksopolisakarida hasil presipitasi dengan etanol 96% diduga sebagai campuran membran sitoplasma yang menyatu dengan dinding sel eksopolisakarida. Hal ini sesuai dengan pernyataan Juin *et al.* (2014) bahwa adanya perubahan pada morfologi sel *P. cruentum* sehingga berbentuk filamen tipis panjang, termasuk fusi sistematis dari dinding sel, yang disebabkan bercampurnya membran sitoplasma dengan dinding sel eksopolisakarida.

### Gugus fungsi

Gugus fungsi eksopolisakarida dari *P. cruentum* ditunjukkan dengan adanya puncak pita pada spektrum transmittansi pada suatu bilangan gelombang, spektrum FTIR eksopolisakarida *P. cruentum* dapat dilihat pada Gambar 4.

Gugus O-H eksopolisakarida *P. cruentum* terdeteksi pada 3647,48 cm<sup>-1</sup> untuk KOH dan 3405,42 cm<sup>-1</sup> untuk etanol. Hal ini sesuai dengan penelitian Abdala-Diaz *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa gugus fungsi hidroksi (O-H) dari

eksopolisakarida *P. cruentum* berada pada 3384 cm<sup>-1</sup>. Serapan yang muncul pada daerah bilangan gelombang 3697,3 dan 3622,1 menunjukkan adanya vibrasi ulur dari -OH, sedangkan vibrasi pada 3431,1 cm<sup>-1</sup> merupakan vibrasi H-O-H yang membentuk ikatan hidrogen dengan air. Hal ini juga ditegaskan oleh Madejova (2003) bahwa munculnya puncak pada bilangan gelombang 3669; 3653 dan 3620 cm<sup>-1</sup> merupakan vibrasi ulur -OH dari silanol atau yang terdapat diantara lembaran tetrahedral dengan oktahedral. Katti (2001) melaporkan serapan pada 3634 cm<sup>-1</sup> adalah vibrasi tekuk O-H sedangkan pada bilangan gelombang 3433 cm<sup>-1</sup> merupakan vibrasi HO-H yang membentuk ikatan hidrogen dengan air.

Hasil analisis gugus fungsi *P. cruentum* menunjukkan adanya polisakarida, baik hasil presipitasi KOH maupun etanol, hal ini ditunjukkan dengan adanya penyerapan pada bilangan gelombang 1115,90 cm<sup>-1</sup> pada KOH dan 1138,65 cm<sup>-1</sup> pada etanol (Tabel 2). Penyerapan 1200-800 cm<sup>-1</sup> menunjukkan adanya ikatan polisakarida dengan komposisi dan struktur yang berbeda (Sood *et al.* 2013).

Tabel 2 Bilangan gelombang dan gugus fungsi eksopolisakarida *P.cruentum* dipresipitasi dengan bahan presipitasi berbeda  
(Table 2 The wave numbers and funtional groups of *P. cruentum* exopolysaccharide after precipitated with different precipitation agents)

Wave numbers ( $cm^{-1}$ )	Functional groups	Wave numbers( $cm^{-1}$ )		Compound
		EPS-KOH 5%	EPS-ethanol 96%	
3660-2990	O-H	3647.48	3405.42	Hydroxyl
1740-1610	C=O	1426.28	1686.67	Ketones
1330-1190	C-H	1115.90	1138.65	Polysccharides

Senyawa-senyawa lain juga terlihat pada hasil analisa gugus fungsi, diantaranya senyawa sulfida pada bilangan gelombang 2361,05–2337,37 untuk eksopolisakarida hasil presipitasi dengan KOH 5% dan 2242,70–2118,60 pada eksopolisakarida hasil presipitasi dengan etanol 96%, hal ini sesuai dengan pernyataan Patel *et al.* (2013) yang melaporkan bahwa eksopolisakarida *P. cruentum* memiliki kandungan sulfat sebanyak 0,082 g/g. Senyawa lainnya yang terdeteksi adalah senyawa golongan O-H, dalam hal ini adalah senyawa KOH atau EtOH (etanol) yang digunakan sebagai bahan untuk presipitasi eksopolisakarida. Senyawa golongan C-Cl juga terdeteksi yaitu senyawa garam pada media air laut yang digunakan.

### Viskositas eksopolisakarida

Presipitasi dengan etanol menghasilkan viskositas eksopolisakarida yang lebih tinggi dibanding dengan presipitasi KOH. Nilai viskositas eksopolisakarida *P. cruentum* pada konsentrasi 0,25% cukup tinggi yaitu sebesar 76,8 cP (presipitasi dengan KOH) dan 134,4 cP (presipitasi etanol 96%). Nilai viskositas semakin besar maka semakin besar kekentalan larutan. Jading *et al.* (2011) menyatakan bahwa nilai viskositas pati dipengaruhi oleh daya serap air, suhu dan pH. Suhu pengeringan oven yang tinggi dan perubahan pH pada presipitasi KOH diduga memengaruhi viskositas eksopolisakarida yang dihasilkan. Ginzberg *et al.* (2008) melaporkan viskositas eksopolisakarida *P. cruentum* pada konsentrasi 0,5% mencapai 1.000 cP. Bahan presipitasi yang berbeda diduga berpengaruh terhadap viskositas eksopolisakarida.

### Jenis monosakarida

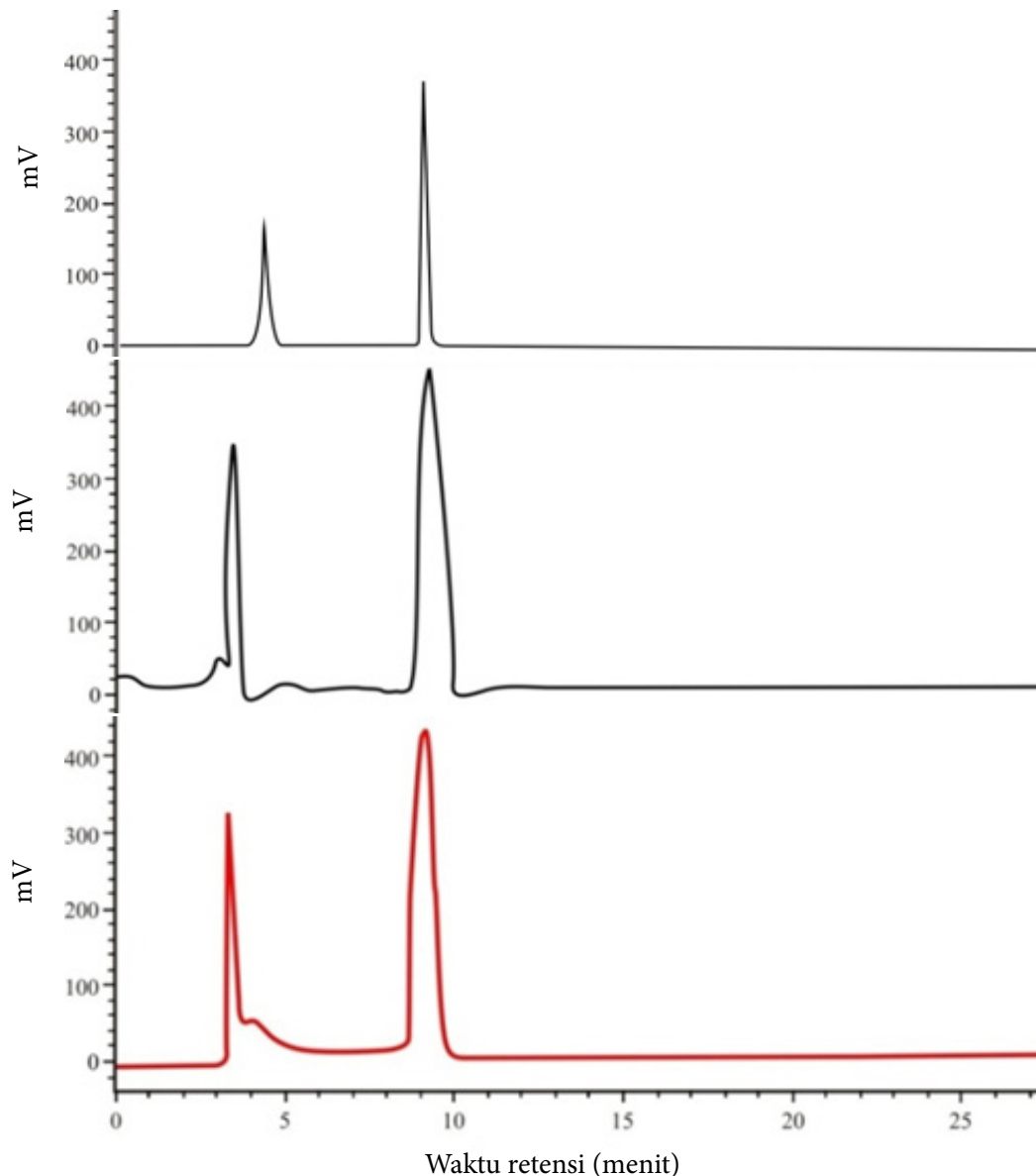
Monosakarida yang terdeteksi pada eksopolisakarida hasil presipitasi KOH maupun etanol adalah fruktosa, pada waktu retensi menit ke 9,0–10,0, dengan jumlah sebanyak 18,3 g/L (presipitasi KOH) dan 18,9 g/L (presipitasi etanol 96%). Waktu retensi menit ke 3,5–5,0 merupakan pelarut yang digunakan yaitu air (kontrol) (Gambar 5). Menurut Markou *et al.* (2013) fruktosa merupakan isomer dari glukosa yang dapat difermentasi menjadi bioetanol. Bai *et al.* (2008) melaporkan bahwa pada jalur metabolisme fermentasi oleh *S. cerevisiae*, fruktosa termasuk jenis gula yang bisa difermentasi oleh *S. cerevisiae* menjadi bioetanol (Gambar 5).

Hasil ini berbeda dengan penelitian Patel *et al.* (2013) yang menyatakan bahwa eksopolisakarida *P. cruentum* mengandung galaktosa 40%, xilosa 30%, glukosa 20%, dan asamglukoronik sebesar 10%. Eksopolisakarida *P. cruentum* terdiri dari polisakarida tunggal dengan diversitas yang sangat besar, maka eksopolisakarida *P. cruentum* memiliki potensi kandungan monosakarida hasil degradasi dari polisakarida yang beragam. Hasanah (2016) melaporkan bahwa kandungan gula eksopolisakarida *P. cruentum* yang terdeteksi adalah maltoheptosa, maltoheptosa merupakan tujuh disakarida maltosa yang tersusun dari komponen glukosa.

### Kadar gula total hidrolisat eksopolisakarida

Kadar gula total dari esopolisakarida dengan presipitasi etanol 96% dan KOH 5% menggunakan bahan penghidrolisis HCl





Gambar 5 Monosakarida eksopolisakarida hasil presipitasi dengan KOH 5% (a) presipitasi dengan etanol 96% (b), dan standar (c)

(Figure 5 Monosaccharide of exopolysaccharide precipitated with KOH 5% (a) 96% ethanol (b), and standard (c))

2 N yaitu  $24,81 \pm 1,07\%$  dan  $22,56 \pm 1,77\%$ , sedangkan menggunakan akuades sebagai penghidrolisis yaitu  $12,80 \pm 0,16$  dan  $9,43 \pm 1,61$ . Kadar gula tertinggi dari eksopolisakarida dengan presipitasi etanol 96% diperoleh dari hidrolisis HCl 2 N. Menurut Iryani (2013) asam klorida efektif memecah molekul pati dan mampu menghasilkan sakarida berantai pendek. Penambahan HCl menyebabkan nilai konstanta reaksi hidrolisis terhadap konversi pati lebih cepat yaitu 0,0086/menit dengan

konversi sebesar 0,2884. Bailar *et al.* (1965) menyatakan bahwa larutan HCl memiliki reaktivitas lebih tinggi, sehingga menyebabkan lebih banyak polisakarida terdegradasi, hal ini umumnya ditandai dengan warna yang lebih pekat.

## KESIMPULAN

Eksopolisakarida hasil presipitasi etanol dan KOH memiliki perbedaan karakteristik pada hasil analisis kadar air, abu, struktur

partikel, viskositas, dan gugus fungsi, namun jenis monosakarida yang terdeteksi sama, yaitu fruktosa, yang bisa dimanfaatkan oleh kapang untuk proses fermentasi menjadi etanol. Hidrolisis terpilih adalah menggunakan HCl 2 N, 100°C, selama 3 jam dengan kadar gula total yang dihasilkan sebesar 24,31%.

Presipitasi dengan KOH menghasilkan rendemen eksopolisakarida kering 4 kali lebih tinggi daripada presipitasi dengan etanol, sehingga KOH bisa menjadi alternatif bahan presipitan pada pemanenan eksopolisakarida *P. cruentum*.

#### DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2007. Official of Analysis of the Association of Official Analytical of Chemist. Arlington (USA). The Association of Official Analytical of Chemist, Inc.
- Arad SM, Adda M, Cohen E. 1985. The potential of production of sulfated polysaccharides from *Porphyridium*. *Plant and Soil*. 89: 117-127.
- Arad S, Levy-Ontman O. 2010. Red microalgal cell-wall polysaccharides: biotechnological aspect. *Current Opinion in Biotechnology*. 21: 358-364.
- [ASTM] American Society for Testing Material. 2013. ASTM E1252 : Standard Peactice for General Techniques for Obtaining Infrared Spectra for Qualitative Analysis. Pennsylvania (US): American Society for Testing Material.
- Bai FW, Anderson WA, Moo-Young M. 2008. Ethanol fermentation technologies from sugar and starch feedstocks. *Biotechnology Advances*. 26: 89-105.
- Dubois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers PA, Smith F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analitic Chemical*. 28: 350-356.
- Ega L, Lopulalan CGC, Meiyasa F. 2016. Kajian mutu karaginan rumput laut *Euchema cottonii* berdasarkan sifat fisiko kimia pada tingkat konsentrasi kalium hidroksida yang berbeda. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 5 (2) : 38-44.
- Geresh S, Mamontov A, Weinstein J. 2002. Sulfation of extracellular polysaccharides of red microalgae: preparation, characterization and properties. *Journal Biochemichal Biophyscal Methods* 50: 179-187
- Hasanah, Setyaningsih I, Uju. 2016. Teknik pemanenan dan pemisahan polisakarida *Porphyridium cruentum* dengan membran ultrafiltrasi. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19 (2): 110-120.
- Iryani AS. 2013. Pengaruh jenis katalis asam terhadap studi kinetika proses hidrolisis pati dlam ubi kayu. *Ilmu Teknik*. 8(15): 1078-1081.
- Jading A, Tethool E, Payung P, Gultom S. 2011. Karakteristik fisikokimia pati sagu hasil pengeringan secara fluidisasi menggunakan alat pengering cross flow fluidized bed bertenaga surya dan biomassa. *Reaktor*. 3(13): 155-164.
- Juin C, Cherouvrier JR, Thiery V, Gagez AL, Berard JB, Joguet N, Kaas R, Cadoret JP, Picot L. 2014. Microwave-Assisted extraction of phycobiliproteins from *Porphyridium purpureum*. *Appied Biochemical Biotechnology*. 175: 1-15.
- Katti K, Katti D. Effect of clay-water interactions on swelling in montmorillonite clay. 2001. Departement of Civil Engineering and Construction North Dakota State University, Fargo.
- [KESDM] Kementerian Energi dan Sumber Daya Mineral. 2015. *Renstra Kementerian ESDM tahun 2015-2019*. Jakarta (ID): KESDM.
- Kusmiati, Agustini SNW. 2010. Manfaat eksopolisakarida dari mikroalga *Porphyridium cruentum* sebagai obat luka terbuka. *Prosiding Seminar Nasional Rumput Laut dan Minisimposium Mikroalga II*. Jakarta. 22-21 Juni 2010: hal. 261-271-ISBN 979-8105-87-7.
- Madejova J. 2003. FTIR techniques in clays mineral studies. *Slovak Academy of Sciences*. 31. 1 – 10.
- Markou G, Angelidaki I, Nerantzis E, Georgakakis D. 2013. Bioethanol production by carbohydrate-Enriched biomass of *Arthrospira (spirulina)*

- platensis*. *Energies*. 6: 3937-3950.
- Mishra A, Jha B. 2009. Isolation and characterization of extracellular polymeric substances from microalgae *Dunaliella salina* under salt stress. *Bioresource Technology*. 100 : 3382-3386.
- Patel AK, Laroche C, Marcati A, Ursu AV, Jubeau s, Marchal L, Petit E, Djelveh G, Michaud P. 2013. Separation and fractionation of exopolysaccharides from *Porphyridium cruentum*. *Bioresources Technology*. 145: 345-350.
- Prasetyo H, Setyaningsih I, Agungpriyono DR. 2016. Pertumbuhan dan produksi eksopolisakarida *Porphyridium cruentum* pada berbagai kondisi fotoperiode. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 18 (2): 220-230.
- Romenda AP, Pramesti R, Susanto AB. 2013. Pengaruh perbedaan jenis dan konsentrasi larutan alkali terhadap kekuatan gel dan viskositas karaginan *Kappaphycus alvarezii*, Doty. *Journal of Marine Research*. 2(1): 127-133.
- Selco JI, Roberts JL, Jr Wacks DB. 2003. The analysis of seawater: a laboratory - centered learning project in general chemistry. *Journal of Chemical Education* 80 (1): 54-57.
- Setthamongkol P, Tunkijjanukij S, Satapornanit K, Salaenol J. 2015. Growth and nutrient analysis in marine macroalgae. *Kasetsart Journal*. 49:211-218.
- Setyaningsih I, Salamah E, Rahman DA. 2013. Komposisi kimia dan aktivitas antihiperlipidemik biomassa dan polisakarida ekstraseluler dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 16 (1): 79-85.
- Singh S, Arad SA, Richmond A. 2000. Extracellular polysaccharide production in outdoor mass cultures of *Porphyridium* sp. in flat plate glass reactors. *Journal of Applied Phycology*. 12: 269-275.
- Sood G, Sharma S, Kapoor S, Khanna PK. 2013. Optimization of extraction and characterization of polysaccharides from medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* using response surface methodology. *Journal Medical Plants*. 7 (31): 2323-2329.
- Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. 2006. Commercial applications of microalgae. *Journal of Bioscience Bioengineering*. 101:87-96.
- Uy FS, Easteal AJ, Fard MM. 2005. Seaweed processing using industrial singlemode cavity microwave heating: a preliminary investigation. *Carbohydrate Research*. 340: 1357-1364.