



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI LIKOPEN DARI
HASIL FERMENTASI *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169**

SKRIPSI

**NURUL FAUZIAH HAQ
0806398543**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
JULI
2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**ISOLASI, PURIFIKASI, DAN KARAKTERISASI LIKOPEN DARI
HASIL FERMENTASI *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**NURUL FAUZIAH HAQ
0806398543**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
DEPARTEMEN FARMASI
DEPOK
JULI
2012**

HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

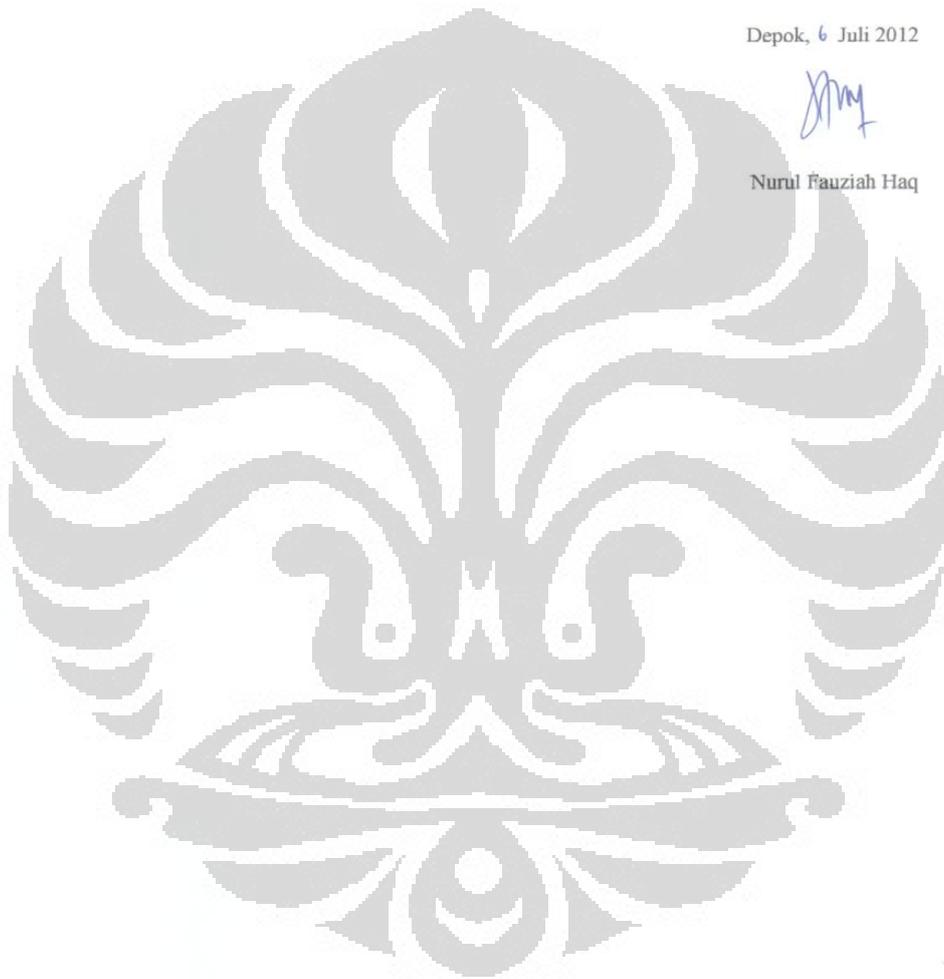
Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 6 Juli 2012



Nurul Fauziah Haq



HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Nurul Fauziah Haq

NPM : 0806398543

Tanda Tangan : 

Tanggal : 6 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Nurul Fauziah Haq

NPM : 0806398543

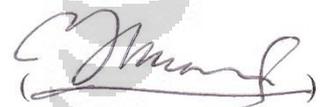
Program Studi : Farmasi

Judul Skripsi : Isolasi, Purifikasi, dan Karakterisasi Likopen dari Hasil
Fermentasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada FMIPA Departemen Farmasi Universitas Indonesia.

DEWAN PENGUJI

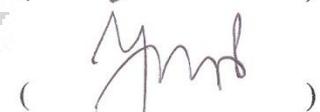
Pembimbing I : Dr. Herman Suryadi, MS.

()

Pembimbing II: Dr. Harmita, Apt

()

Penguji I : Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS, Apt

()

Penguji II : Dra. Nelly. D. Leswara, M.Sc, Apt

()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 6 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur dipanjatkan kehadirat Allah SWT atas limpahan nikmat, rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini tepat waktu. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurah kepada Nabi Muhammad SAW. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS.,Apt. selaku Ketua Departemen Farmasi FMIPA UI.
2. Dr. Herman Suryadi, MS.,Apt. selaku pembimbing I atas kesabarannya dalam membimbing penulis, memberikan petunjuk dan memberikan banyak sekali masukan selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.
3. Dr.Harmita .,Apt. selaku pembimbing II atas berbagai masukannya yang membuat penulis mampu menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
4. Prof. Dr. Endang Hanani Apt., MS. selaku pembimbing akademik atas berbagai masukan dan saran selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
5. Seluruh dosen Departemen Farmasi FMIPA UI atas segala ilmu pengetahuan dan didikannya selama ini.
6. Seluruh laboran dan karyawan Departemen Farmasi FMIPA UI atas waktu dan bantuannya, terutama selama proses penelitian.
7. *University of Indonesia Culture Collection (UICC)* Departemen Biologi FMIPA Universitas Indonesia yang telah memberikan khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169.
8. Distributor bahan-bahan kimia, khususnya PT. Soho Industri, Tbk yang telah memberikan bantuan standar likopen untuk keperluan penelitian penulis.
9. Keluarga yang telah membesarkan penulis, khususnya papa dan mama tercinta atas segenap kasih sayang serta motivasi yang tak ternilai harganya. Tidak lupa pula kepada

adik dan kakak penulis atas dukungan selama mengerjakan skripsi terutama A'Ipang yang memberikan sukrosa dari PT.Dankos,Tbk.

10. Teman-teman penelitian, Adon, Yogo, Cici, Edita, Samira, Nisa, dan Basyar yang membantu dan menghibur terutama Citra dan Annie yang menemani saat menginap di laboratorium.
11. Sahabat penulis yang selalu memberi semangat Wenny, Citra, Puji, Hani, Celestia, dan Rio.
12. Rekan-rekan mahasiswa farmasi UI 2008 atas kerjasama yang terbina indah selama ini.
13. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu, yang telah memberikan dukungannya selama penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis akan senang hati menerima segala kritik dan saran demi tercapainya hasil yang lebih baik lagi. Harapan penulis, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan ilmu farmasi pada khususnya.

Penulis
2012

**HALAMAN PERNYATAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nurul Fauziah Haq
NPM : 0806398543
Program Studi : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif** (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Isolasi, Purifikasi, dan Karakterisasi Likopen dari Hasil Fermentasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169.

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalih media/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok
Pada tanggal : 6 Juli 2012
Yang menyatakan



(Nurul Fauziah Haq)

viii

viii

ABSTRAK

Nama : Nurul Fauziah Haq
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Isolasi, Purifikasi, dan Karakterisasi Likopen dari Hasil Fermentasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169

Likopen adalah pigmen merah yang dihasilkan oleh mikroorganisme tertentu seperti khamir genus *Rhodotorula*. Likopen merupakan senyawa yang tidak stabil, sehingga untuk mendapatkan senyawa murni dibutuhkan proses yang tidak mudah. Tujuan dari penelitian ini adalah mendapatkan kondisi optimum kultur fermentasi likopen dari *Rhodotorula mucilaginosa* dan selanjutnya dilakukan isolasi, purifikasi, serta karakterisasi likopen tersebut. Optimasi kultur fermentasi dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi sumber karbon dan nitrogen yang sesuai. Fermentasi dilakukan pada suhu 28°C dengan pengocokan pada kecepatan 200 rpm selama 72 jam. Karakterisasi likopen dilakukan menggunakan Spektrofotometri Uv-Vis, Spektrofotometri IR, dan Kromatografi Lapis Tipis Densitometri. Hasil optimum likopen diperoleh pada konsentrasi sumber karbon sukrosa 2,5% dan sumber nitrogen amonium sulfat 2 g/l (6003,87 µg/g). Selanjutnya dilakukan isolasi dan purifikasi likopen hasil fermentasi khamir *Rhodotorula mucilaginosa* melalui reaksi saponifikasi. Oleoresin yang berasal dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dilarutkan dalam n-propanol pada temperatur 50°C selama setengah jam, lalu ditambahkan larutan KOH 45% dan aquadest dengan ratio masing-masing komponen tersebut adalah oleoresin : n-propanol : larutan KOH 45% : aquadest (5:3:1:1). Proses isolasi ini berlangsung selama 3 jam, setelah pendinginan selama ± 4 jam presipitat yang terbentuk disaring dengan menggunakan *filter glass*. Dari hasil tersebut diperoleh kadar likopen dari Oleoresin yang berasal dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* yaitu 18,67%. Spektrum IR isolat likopen yang dibuat menunjukkan puncak-puncak gugusan yang identik dengan standar.

Kata kunci : Fermentasi, isolasi, karakterisasi, likopen, oleoresin, purifikasi, *Rhodotorula mucilaginosa*.
xv+60 halaman : 7 tabel; 27 gambar; 5 lampiran
Daftar acuan : 29 (1986-2012)

ABSTRACT

Name : Nurul Fauziah Haq
Study Program : Pharmacy
Judul Skripsi : Isolation, Purification, and Characterization of Lycopene From the Fermentation results of *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169

Lycopene is the red pigment produced by certain microorganisms such as yeast genus *Rhodotorula*. Lycopene is an unstable compound, so as to obtain pure compounds requires a difficult process. The purpose of this study is to get the optimum conditions of fermentation culture of lycopene from *Rhodotorula mucilaginosa* and subsequent isolation, purification, and characterization of the lycopene. The optimization of fermentation culture was done to obtain the ideal concentration of carbon and nitrogen sources. Fermentation carried out at a temperature of 28°C with shaking at a speed of 200 rpm for 72 hours. Characterization of lycopene performed using UV-VIS spectrophotometry, IR spectrophotometry, and Thin Layer Chromatography densitometry. The results obtained at a concentration of lycopene optimum carbon source sucrose 2,5% and nitrogen source ammonium sulphate 2 g/l (6003,87 µg/g). Further isolation and purification of lycopene fermented yeast *Rhodotorula mucilaginosa* through saponification reaction. Oleoresin derived from the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* was dissolved in n-propanol at a temperature of 50°C for half an hour, then added 45% KOH solution and distilled water with a ratio of each component was Oleoresin: n-propanol: 45% KOH solution: distilled water (5:3:1:1). This isolation process lasted for 3 hours, after cooling for ± 4 hours, precipitate that formed was filtered using a filter glass. From these results, levels of lycopene from Oleoresin obtained from the yeast *Rhodotorula mucilaginosa* is 18,67%. IR spectra of lycopene created isolates showed peaks identical to the standard.

Keywords : Characterization, fermentation, isolation, lycopene, oleoresin, purification, *Rhodotorula mucilaginosa*,
xv+60 pages : 7 tables; 27 figures; 5 appendices
Bibliography : 29 (1986-2012)

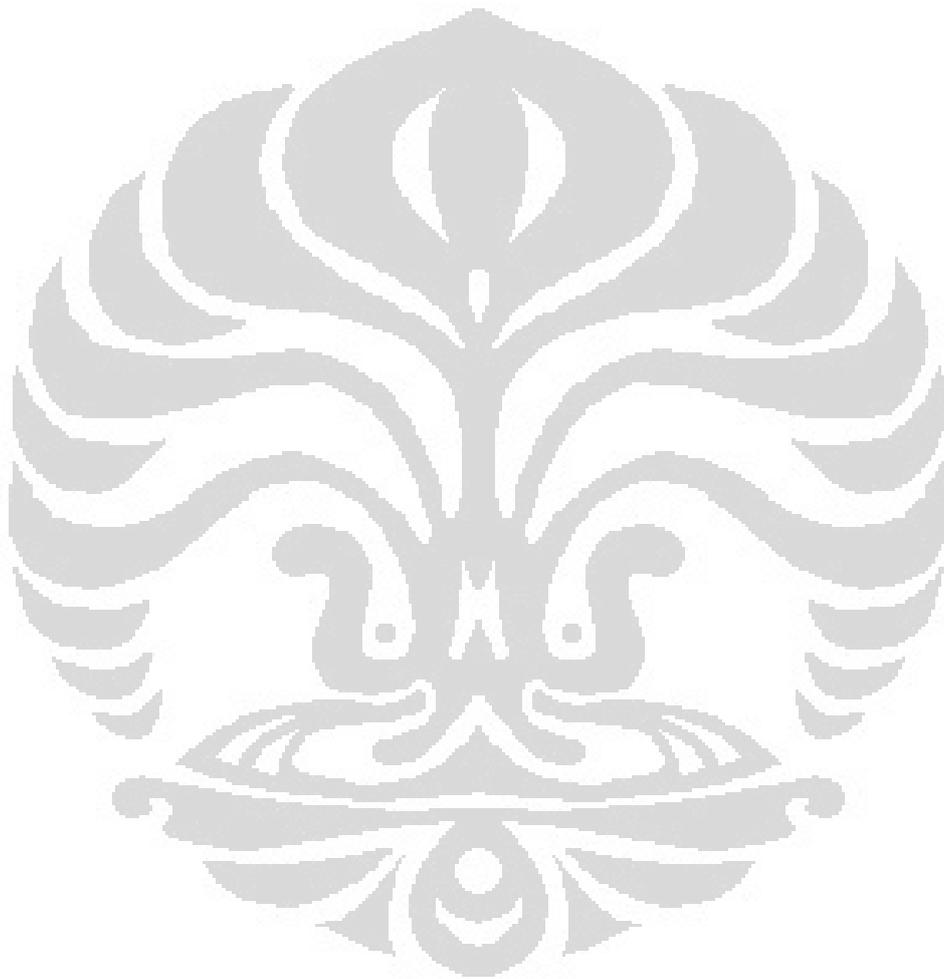
DAFTAR ISI

| | Halaman |
|--|-------------|
| HALAMAN JUDUL..... | ii |
| HALAMAN PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME..... | iii |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS..... | iv |
| HALAMAN PENGESAHAN..... | v |
| KATA PENGANTAR..... | vi |
| HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS..... | viii |
| ABSTRAK..... | ix |
| ABSTRACT..... | x |
| DAFTAR ISI..... | xi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xii |
| DAFTAR TABEL..... | xiv |
| DAFTAR LAMPIRAN..... | xv |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Tujuan Penelitian | 3 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA | 4 |
| 2.1 <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> | 4 |
| 2.2 Likopen | 4 |
| 2.3 Perbanyakkan Biomassa dan Produksi Karotenoid..... | 5 |
| 2.4 Teknik Isolasi dan Pemurnian..... | 6 |
| 2.5 Isolasi dan Purifikasi Likopen | 7 |
| 2.6 Reaksi Saponifikas..... | 7 |
| 2.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) | 8 |
| 2.8 Spektrofotometer UV-Vis | 9 |
| 2.9 Spektrofotometri Infra Merah | 10 |
| BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN..... | 11 |
| 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian | 11 |
| 3.2 Alat..... | 11 |
| 3.3 Bahan | 11 |
| 3.4 Cara Kerja | 11 |
| BAB 4 HASIL DAN PEMBAHASAN..... | 18 |
| 4.1 Hasil..... | 18 |
| 4.2 Pembahasan..... | 20 |
| BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN..... | 27 |
| 5.1 Kesimpulan..... | 27 |
| 5.2 Saran..... | 27 |
| DAFTAR ACUAN..... | 28 |

DAFTAR GAMBAR

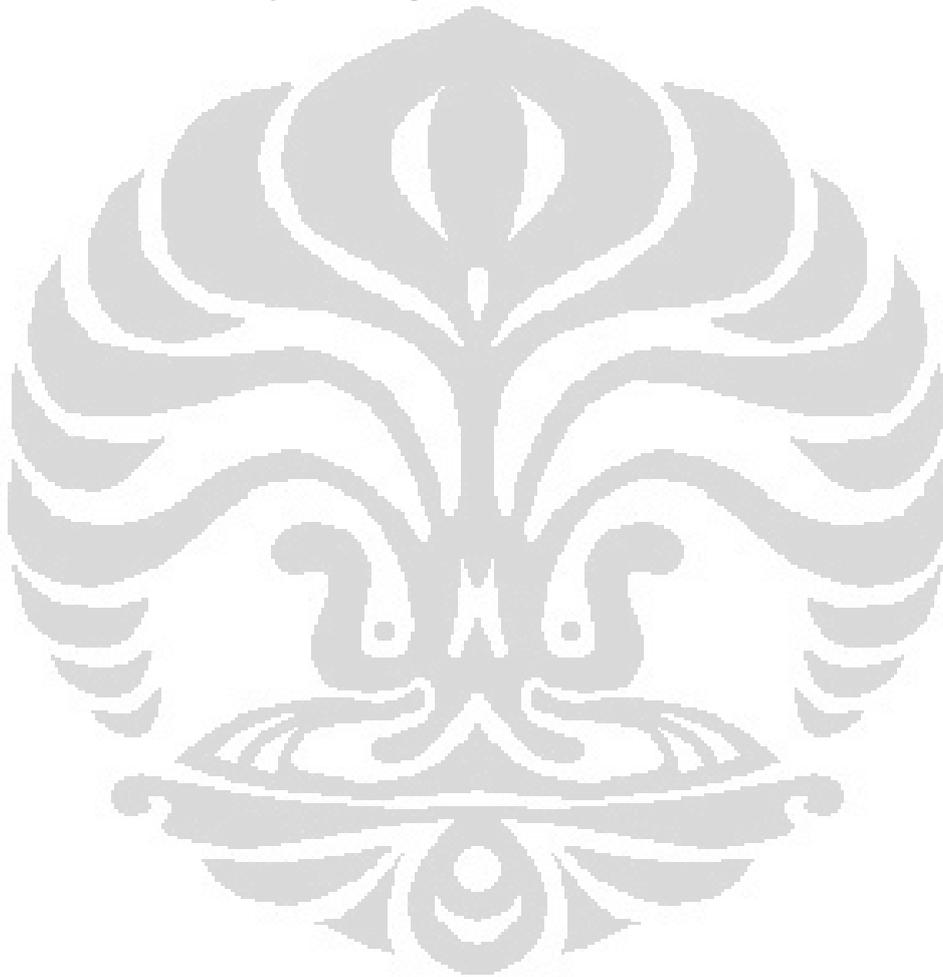
| | Halaman |
|--|---------|
| Gambar 2.1. Rumus Struktur <i>All-trans</i> Likopen..... | 5 |
| Gambar 3.1. Alat Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1601)..... | 31 |
| Gambar 3.2. Alat <i>TLC-Scanner 3</i> (CAMAG)..... | 31 |
| Gambar 3.3. Alat oven vakum..... | 32 |
| Gambar 3.4. Alat <i>Ultrasonic Homogenizer</i> (LabSonic)..... | 32 |
| Gambar 4.1. Spektrum serapan standar likopen 50 µg/ml dalam n-heksan..... | 33 |
| Gambar 4.2. Kromatogram standar likopen 500 µg/ml dengan nilai Rf 0,6..... | 34 |
| Gambar 4.3a. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 2,5%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 35 |
| Gambar 4.3b. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 5%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 35 |
| Gambar 4.3c. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 7,5%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 36 |
| Gambar 4.3d. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 10%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 36 |
| Gambar 4.4a. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium sulfat 0 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 37 |
| Gambar 4.4b. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium sulfat 1 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 37 |
| Gambar 4.4c. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium sulfat 2 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 38 |
| Gambar 4.4d. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium asetat 0 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 38 |
| Gambar 4.4e. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium asetat 1 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 39 |
| Gambar 4.4f. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium asetat 2 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 39 |
| Gambar 4.4g. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Urea 0 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 40 |
| Gambar 4.4h. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Urea 1 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 40 |
| Gambar 4.4i. Kromatogram KLT sampel dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 (medium semi sintetis, Urea 2 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)..... | 41 |
| Gambar 4.5. Kurva Kalibrasi Standar Likopen KLT Densitometri..... | 42 |

| | |
|---|----|
| Gambar 4.6. Serbuk Likopen Hasil Isolasi..... | 43 |
| Gambar 4.7. Spektrum serapan sampel likopen 50 µg/ml dalam n-heksan..... | 44 |
| Gambar 4.8. Spektrum IR Standar Likopen..... | 45 |
| Gambar 4.9. Spektrum IR Hasil Isolasi Likopen..... | 46 |
| Gambar 4.10. Tumpang tindih (overlay) spektrum IR hasil isolasi likopen dan standar likopen..... | 47 |
| Gambar.4.11. Kromatogram KLT sampel likopen dari khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169 dengan konsentrasi 500 µg/ml dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v) pada nilai Rf 0,59..... | 48 |



DAFTAR TABEL

| | Halaman |
|--|---------|
| Tabel 4.1. Hasil Perhitungan kadar standar likopen setelah diekstraksi..... | 49 |
| Tabel 4.2. Kurva Kalibrasi Standar Likopen KLT Densitometri..... | 50 |
| Tabel 4.3. Hasil perhitungan kadar sampel optimasi konsentrasi karbon | 51 |
| Tabel 4.4. Hasil perhitungan kadar sampel optimasi sumber nitrogen..... | 52 |
| Tabel 4.5. Hasil ekstraksi sel khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> dengan n-heksan..... | 53 |
| Tabel 4.6. Hasil Isolasi Likopen dari oleoresin sel khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> | 54 |
| Tabel 4.7. Penetapan Kadar Hasil Isolasi Likopen dari sel khamir <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> dengan KLT Densitometri..... | 55 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | Halaman |
|---|---------|
| Lampiran 1. Cara memperoleh persamaan garis linear..... | 56 |
| Lampiran 2. Cara perhitungan koefisien variasi..... | 57 |
| Lampiran 3. Cara Perhitungan Kadar dalam Sampel..... | 58 |
| Lampiran 4. Sertifikat analisis Likopen..... | 59 |
| Lampiran 5. Surat Determinasi <i>Rhodotorula mucilaginosa</i> UICC Y-169..... | 60 |



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Likopen merupakan jenis karotenoid yang potensial sebagai antioksidan karena kekuatan likopen sebagai antioksidan dua kali dari β -karoten dan sepuluh kali lipat daripada vitamin E. Likopen sebagai antioksidan mempunyai kemampuan untuk mengeliminasi radikal bebas. Radikal bebas dapat menyebabkan berkembangnya penyakit kronis, seperti kanker dan penyakit jantung. Penyakit kronis tersebut merupakan penyebab utama kematian (Kailaku, Dewandari, & Sunarmani, 2007).

Kebiasaan mengonsumsi makanan kaya likopen dapat memberikan keuntungan bagi kesehatan termasuk kemampuannya untuk melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif. Likopen setelah diserap oleh tubuh akan disimpan dalam kelenjar prostat, hati, kolon, dan kulit. Rao dan Agarwal (1998) melaporkan bahwa pada saat kadar likopen dalam darah meningkat terjadi penurunan jumlah senyawa yang teroksidasi. Seseorang yang memiliki kadar likopen yang tinggi dalam darahnya berada pada tingkat risiko yang lebih rendah untuk terkena berbagai macam penyakit kanker terutama kanker prostat. Kanker prostat menduduki peringkat kedua penyebab kematian akibat kanker pada pria. Pada penelitian terhadap pasien-pasien kanker prostat, konsumsi likopen terbukti memperlambat pertumbuhan tumor prostat (Kailaku, Dewandari, & Sunarmani, 2007).

Sebuah studi dari John Hopkins University menunjukkan jumlah likopen yang rendah dalam darah, berisiko untuk terjadinya kematian akibat penyakit jantung koroner. Dalam penelitian lain dinyatakan bahwa jumlah likopen yang rendah di dalam darah berhubungan dengan meningkatnya ketebalan pembuluh darah sebesar 18%. Dari penelitian yang dilakukan oleh Agarwal dan Rao (1998) dilaporkan bahwa asupan likopen 40mg/hari dapat menurunkan oksidasi LDL secara bermakna dan menurunkan kanker sebesar 50% (Kailaku, Dewandari, & Sunarmani, 2007).

Sumber likopen adalah tomat, jambu biji merah, dan semangka. Peran likopen yang luas menuntut usaha di dalam meningkatkan produksi likopen, oleh karena itu diperlukan sumber likopen lain. Sumber likopen selain dari tanaman juga berasal dari mikroorganisme. Genus dari khamir yang potensial dalam produksi likopen adalah *Rhodotorula*. Peningkatan produksi likopen dari khamir yaitu dengan melakukan optimasi kondisi kultur fermentasi menggunakan sumber karbon dan nitrogen yang sesuai (Frengova & Beshkova, 2009; Kailaku, Dewandari, & Sunarmani, 2007).

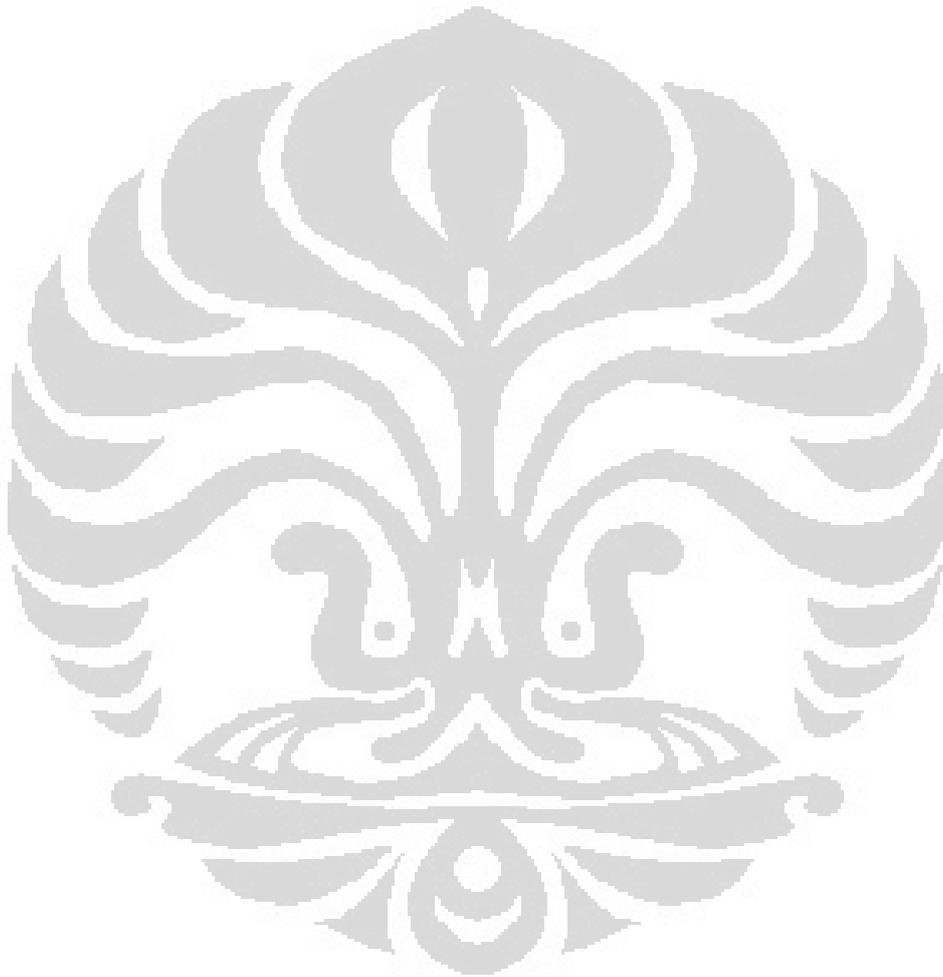
Penelitian Aksu dan Eren yaitu produksi karotenoid dari *Rhodotorula mucilaginosa* menunjukkan bahwa pH dan suhu optimum untuk produksi total karotenoid yaitu 7,0 dan 30°C. Konsentrasi dan hasil produksi karotenoid meningkat secara signifikan dengan meningkatnya tingkat aerasi hingga 2,4 vvm. Konsentrasi ammonium sulfat 2 g l⁻¹ memberikan produksi karotenoid maksimum. Minyak biji kapas hanya meningkatkan produktivitas karotenoid pada konsentrasi glukosa lebih rendah. Secara umum, peningkatan konsentrasi glukosa meningkatkan pertumbuhan khamir dan total produksi karotenoid. Konsentrasi karotenoid tertinggi (89,0 mg karotenoid total per liter kaldu fermentasi) diperoleh pada konsentrasi 20 g l⁻¹ sukrosa molase digunakan sebagai sumber karbon, sedangkan hasil produk tertinggi (35,0 mg karotenoid total per gram sel kering) diperoleh pada konsentrasi 13,2 g l⁻¹ laktosa digunakan sebagai sumber karbon (Aksu & Eren, 2005).

Penelitian sebelumnya melakukan skrining spesies-spesies dari khamir *Rhodotorula* yang lebih potensial sebagai sumber likopen. Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa *Rhodotorula mucilaginosa* lebih potensial sebagai sumber likopen dibandingkan dengan spesies *Rhodotorula* lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan warna kultur *Rhodotorula mucilaginosa* yang berwarna lebih merah dibandingkan dengan warna kultur spesies *Rhodotorula* lainnya. Selain itu, ditunjukkan bahwa *Rhodotorula mucilaginosa* yang menggunakan sumber karbon sukrosa 5% dan pada waktu fermentasi selama 72 jam menghasilkan likopen optimum yaitu 9,8815 µg/g (Fuziati, 2010). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menghasilkan kondisi optimum proses fermentasi

likopen dari kultur *Rhodotorula mucilaginosa*. Selanjutnya dilakukan isolasi, purifikasi, karakterisasi dan penetapan kadar likopen.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Mendapatkan kondisi optimum kultur fermentasi likopen dari *Rhodotorula mucilaginosa*.
2. Isolasi, purifikasi, karakterisasi dan penetapan kadar likopen hasil isolasi.



BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Rhodotorula mucilaginosa*

Rhodotorula mucilaginosa adalah khamir dari filum Basidiomycota termasuk dalam kelas Urediniomycetes, yang memiliki dinding sel berlapis, berselang-seling antara dinding sel tebal dengan dinding sel tipis yang disebabkan oleh pembentukan tunas sel (Alexopoulos, Mims, & Blackwell, 1986).

Sel *Rhodotorula mucilaginosa* berbentuk oval dan bulat. Ukuran sel dengan lebar 2,5-5,5 mikron dan panjang 5-10 mikron. *Rhodotorula mucilaginosa* bereproduksi dengan pembentukan tunas melalui pembelahan multilateral. *Rhodotorula mucilaginosa* dapat tumbuh pada temperatur minimum 0,5-5°C dan maksimum 35°C, pH minimum untuk pertumbuhannya adalah 2,2 dengan penambahan HCl atau asam organik. (Frengova, E, Simova & Beshkova, 1997).

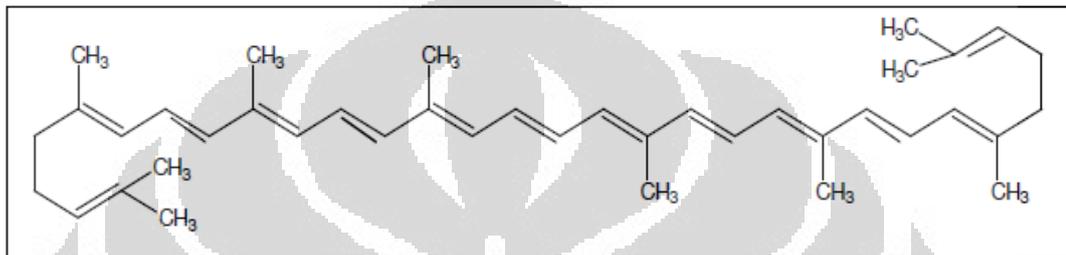
Rhodotorula mucilaginosa bersifat aerob yang membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya. *Rhodotorula mucilaginosa* tumbuh melebar pada medium pertumbuhan, dapat ditemukan dalam air ataupun pada tanah. Khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dapat menghasilkan pigmen karotenoid, dengan jumlah dan jenis pigmen yang dihasilkan tergantung dari jenis dan kondisi kultur pertumbuhannya. Koloni memiliki warna jingga, merah muda, atau merah pada kultur yang disebabkan oleh produksi pigmen karotenoid (Fardiaz, 1992). Pigmen yang dihasilkan adalah likopen, β-karoten, torulen, dan torularhodin. (Frengova & Beshkova, 2009).

2.2 Likopen

Likopen memiliki rumus molekul $C_{40}H_{56}$, berat molekul 536,88 dengan titik lebur 172°C-175°C. Likopen merupakan suatu hidrokarbon polien dengan rantai asiklik terbuka tak jenuh yang larut lemak. Struktur kimia likopen merupakan rantai lurus hidrokarbon terdiri dari 13 ikatan rangkap dengan 11 ikatan rangkap konjugasi, sementara dua ikatan rangkap sisanya tidak terkonjugasi. Likopen menjadi salah satu karotenoid yang tidak memiliki aktivitas

prekursor vitamin A disebabkan tidak memiliki cincin β -ionone, tetapi merupakan prekursor terbentuknya β -karoten (Agarwal & Rao, 2000).

Likopen merupakan kristal berbentuk seperti jarum, panjang, berwarna merah coklat. Likopen bersifat hidrofobik kuat dan lebih mudah larut dalam benzene, n-heksan, kloroform dan pelarut organik lain, tetapi tidak larut dalam air. Panjang gelombang maksimumnya adalah 446 - 506 nm. Likopen disimpan pada temperatur 2°C - 8°C (Sudrajat & Gunawan, 2003).



Gambar 2.1. Struktur *All-Trans* Likopen

2.3 Perbanyak Biomassa dan Produksi Karotenoid

Perbanyak biomassa khamir dengan fermentasi dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu medium, volume inokulum, suhu, dan kecepatan pengocokan (Stanbury, Whitaker, & S, 1995). Pertumbuhan dan perbanyak sel khamir membutuhkan nutrisi yang cukup dan sesuai, sel akan mengambil nutrisi dari lingkungan atau medium. Produksi karotenoid meningkat dengan cara melakukan optimasi kondisi kultur (Libkind & Broock, 2006).

Aksu dan Eren melaporkan bahwa ada beberapa yang mempengaruhi produksi karotenoid dengan fermentasi yaitu efek dari pH, suhu, tingkat aerasi, konsentrasi glukosa dan amonium sulfat, dan aktivator (minyak biji kapas dan Tween 80). Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pH dan suhu optimum untuk produksi total karotenoid yaitu 7,0 dan 30°C . Konsentrasi dan hasil produksi karotenoid meningkat secara signifikan dengan meningkatnya tingkat aerasi hingga 2,4 vvm. Konsentrasi ammonium sulfat 2 g l^{-1} memberikan produksi karotenoid maksimum. Minyak biji kapas hanya meningkatkan produktivitas karotenoid pada konsentrasi glukosa lebih rendah. Secara umum, peningkatan konsentrasi glukosa meningkatkan pertumbuhan khamir dan total produksi

karotenoid. Konsentrasi karotenoid tertinggi (89,0 mg karotenoid total per liter kaldu fermentasi) diperoleh pada konsentrasi 20 g l⁻¹ sukrosa molase digunakan sebagai sumber karbon, sedangkan hasil produk tertinggi (35,0 mg karotenoid total per gram sel kering) diperoleh pada konsentrasi 13,2 g l⁻¹ laktosa digunakan sebagai sumber karbon (Aksu & Eren, 2005).

Jukyong, Hoenchun, dan Sejong melaporkan bahwa pertumbuhan dan produksi karotenoid khamir dengan isolat dari larva *Pieris rapae* (*Rhodotorula mucilaginosa* HP) dipengaruhi oleh pepton (sumber nitrogen) dan glukosa (sumber karbon). Penelitian menunjukkan bahwa kondisi pertumbuhan optimal dari *R. mucilaginosa* HP adalah 3,23% ekstrak yeast, 2,84% ekstrak malt, 6,99% pepton, dan 12,86% glukosa. Kondisi produksi karotenoid optimal dari *R. mucilaginosa* HP adalah 2,17% ekstrak yeast, 2,11% ekstrak malt, dan 5,79% pepton (Jukyong, Hoenchun, dan Sejong, 2009).

Diego dan Maria melaporkan bahwa isolasi khamir *R. mucilaginosa* untuk biomassa dan produksi karotenoid yang potensial dengan menggunakan ammonium sulfat dan urea sebagai sumber nitrogen dan produk dari agroindustri sebagai sumber karbon dalam medium semi sintesis, dihasilkan produksi karotenoid yang maksimum adalah 300 µg g⁻¹ (Libkind & Broock, 2006).

2.4 Teknik Isolasi dan Pemurnian (Furniss, Hannaford, Smith, & Tatchell, 1989)

Isolasi digunakan untuk mendapatkan suatu produk yang murni dari campuran reaksi (bebas dari pelarut, reagen yang berlebihan). Teknik isolasi dan pemurnian diantaranya adalah rekristalisasi.

Rekristalisasi adalah suatu metode untuk pemurnian senyawa padatan yang dihasilkan dari reaksi-reaksi organik. Metode rekristalisasi melibatkan lima tahapan, yaitu: Pertama, pemilihan pelarut dimana pelarut yang digunakan adalah pelarut yang melarutkan secara mudah pengotor-pengotor dan harus mudah menguap, sehingga dapat dipisahkan secara mudah dari zat yang dimurnikan. Pelarut tidak boleh bereaksi dengan zat yang akan dimurnikan. Kedua, padatan yang akan dimurnikan dilarutkan dalam sejumlah minimum pelarut. Ketiga, larutan kemudian disaring. Keempat, filtrat kemudian dibiarkan dingin, maka zat

padat murni akan mengkristal. Kristalisasi sempurna jika kristal yang terbentuk banyak. Jika kristalisasi tidak terbentuk selama pendinginan filtrat dalam waktu cukup lama maka larutan harus dibuat lewat jenuh. Kelima, Kristal dipisahkan dari larutan induk dengan penyaringan. Bila larutan induk sudah keluar, kristal dicuci dengan pelarut untuk menghilangkan kotoran yang menempel. Kristal kemudian dikeringkan dengan menekan kertas saring atau di dalam oven.

2.5 Isolasi dan Purifikasi Likopen (Ausich, Sanders, Moines, & Iowa, 1999)

Sel-sel khamir yang normal tidak menghasilkan likopen. Kemampuan produksi likopen pada khamir dapat diketahui dengan pengenalan aktivitas biologis fitoen.

Isolasi dan purifikasi likopen diawali dengan proses ekstraksi dengan cara sel yang diperoleh dikeringkan dan diekstraksi dengan n-heksana. Ekstrak n-heksana dicuci dengan air, kemudian pelarut dihilangkan dengan penguapan pada tekanan rendah, sehingga diperoleh oleoresin likopen. Setelah itu, dilanjutkan dengan reaksi saponifikasi dengan cara propilen glikol ditambahkan ke oleoresin yang mengandung likopen sehingga berat rasio propilen glikol dengan oleoresin adalah 3:5. Campuran dipanaskan sampai 55°C dengan agitasi. Larutan kalium hidroksida 45% (2:5 berat rasio larutan kalium dengan oleoresin) dicampur ke dalam campuran oleoresin yang hangat. Campuran reaksi saponifikasi akan terbentuk (5:3:1:1 oleoresin dengan propilen glikol dengan alkali dengan air) diaduk selama satu jam dan jaga suhu antara 55°C dan 70°C.

Pengumpulan kristal likopen dengan cara tambahkan air hangat (60°C-70°C) ke dalam campuran reaksi saponifikasi, lalu diaduk (rasio sekitar 8 volume air per volume campuran). Larutan yang dihasilkan disaring untuk mengisolasi kristal likopen. Kristal likopen dicuci dengan air hangat lebih dan dikeringkan di bawah aliran nitrogen hangat.

2.6 Reaksi Saponifikasi (Pine, H. S., *et al*, 1988)

Saponifikasi atau penyabunan adalah reaksi hidrolisis antara asam lemak oleh adanya basa lemah. Hasil dari reaksi saponifikasi adalah gliserol dan sabun (garam natrium atau kalium dari asam karboksilat). Sabun terdiri dari gugus

karboksilat (polar) dan rantai hidrokarbon (nonpolar) yang bergabung membentuk *misel* dimana ujung karboksilat yang polar dari molekul terdapat pada tepi luar misel yang bersifat hidrofil dan ujung hidrokarbon yang nonpolar berada di pusat misel yang bersifat hidrofob.

2.7 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis dapat digunakan dengan tujuan sebagai metode untuk mencapai hasil kualitatif (untuk menentukan kemurnian zat dan mengetahui pengotor yang terdapat dalam zat dan untuk mengidentifikasi zat karena setiap zat memiliki nilai R_f tertentu pada suatu sistem KLT tertentu), kuantitatif dan preparatif (Gritter, 1991).

KLT mempunyai kelebihan diantaranya adalah peralatan dan teknik pengerjaan yang digunakan sederhana, waktu cukup singkat (15-60 menit), dan jumlah zat yang diperlukan cukup kecil (kira-kira 0,01 g senyawa murni, 0,1 g simplisia). Kekurangan dari teknik ini hanya pada prosedur pembuatan lempengnya yang memerlukan tambahan waktu, kecuali bila telah tersedia lempeng yang diproduksi secara komersial (Harmita, 2006).

Kriteria zat yang dapat dianalisis dengan KLT antara lain dapat terdeteksi pada kromatogram, dapat dilarutkan, dapat dielusi dengan fase geraknya, tidak bersifat volatil sehingga tidak menguap selama proses elusi dan pengeringan kromatogram, harus stabil selama proses kromatografi, baik terhadap cahaya, udara dan pelarut yang digunakan. Hal-hal yang harus diperhatikan untuk pelarut yang digunakan adalah Pelarut harus murni, bila perlu disaring kembali, campuran pelarut hanya boleh digunakan maksimum dua atau tiga kali, komposisi campuran dapat berubah karena penyerapan atau penguapan dan komponen-komponen campuran pelarut mungkin bereaksi satu sama lain (Harmita, 2006).

Sistem KLT dapat diatur dengan mengubah sifat permukaan penjerat atau dengan mengubah-ubah kepolaran dari fase gerak. Mengubah fase gerak lebih mudah dan lebih sering dilakukan. Penjerat KLT (fase diam) umumnya dapat digolongkan menjadi dua, yaitu penjerat dari bahan silika gel dan alumina. Silika gel paling banyak digunakan untuk memisahkan senyawa yang bersifat asam,

sedangkan alumina bersifat basa digunakan untuk senyawa basa. Hal ini untuk mencegah terjadinya pengikatan secara kuat senyawa dengan penjerat karena ikatan ion diantara keduanya. Selain silika dan alumina juga digunakan penjerat lain seperti selulosa atau poliamida, dan tanah diatome (Fried dan Joseph, 1996).

Fase gerak diubah-ubah dengan cara mengkombinasikan pelarut agar diperoleh kepolaran yang tepat untuk pemisahan tertentu. Hal yang harus diperhatikan dalam pencampuran pelarut adalah hanya pelarut dengan kepolaran yang serupa yang dapat dicampur (Fried dan Joseph, 1996). Pemilihan fase gerak sebaiknya memenuhi syarat yaitu memberikan nilai R_f antara 0,2–0,8, memberikan selektifitas yang cukup baik kepada komponen zat aktif yang akan dipisahkan, fase gerak yang digunakan harus memiliki kemurnian sangat tinggi dan stabilitas yang baik, memiliki viskositas yang rendah, dan tidak toksik (Harmita, 2006).

Pada tahap identifikasi atau penampakan noda, jika noda sudah berwarna dapat langsung diperiksa dan ditentukan harga R_f -nya. Besaran R_f ini menyatakan derajat retensi suatu komponen dalam fase diam. R_f juga disebut faktor retardasi atau faktor retensi. Harga R_f dihitung sebagai jarak yang ditempuh oleh komponen sampel dibagi dengan jarak yang ditempuh eluen (Soebagio, Ibnu, Widarti, & Munzil, 2005):

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh komponen sampel}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen}} \dots\dots\dots (2.1)$$

2.8 Spektrofotometer UV-Vis (Harmita, 2006)

Spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur besarnya energi yang diabsorpsi/diteruskan. Jika radiasi yang monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi ini akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zatnya dan sisanya ditransmisikan.

Spektrofotometer Uv-Vis digunakan terutama untuk analisis kuantitatif, tetapi dapat juga digunakan untuk analisis kualitatif yaitu dengan membandingkan panjang gelombang maksimum, membandingkan serapan (A) dan daya serap (a), dan juga membandingkan spektrum serapan.

Faktor-faktor yang mempengaruhi spektrum serapan adalah jenis pelarut (pelarut tidak boleh mengabsorpsi cahaya pada daerah panjang gelombang dimana dilakukan pengukuran sampel), pH larutan (perubahan pH larutan akan menyebabkan perubahan panjang gelombang maksimum), kadar larutan (jika konsentrasi tinggi akan terjadi polimerisasi yang menyebabkan panjang gelombang maksimum berubah), tebal larutan (jika digunakan kuvet dengan tebal yang berbeda maka akan memberikan spektrum serapan yang berbeda), dan lebar celah (makin lebar celah maka makin lebar pula serapan, sehingga puncak-puncak kurva tidak sempurna).

2.9 Spektrofotometri Infra Merah (S, E.G.Giwangkara, 2007)

Spektrofotometri infra merah adalah salah satu metode dalam analisis struktur senyawa organik. Spektra IR memberikan informasi tentang jenis gugus fungsional yang terdapat dalam suatu senyawa sehingga dapat diperkirakan gugus-gugus apa saja yang terkandung dalam senyawa tersebut. Radiasi infra merah mempunyai panjang gelombang yang lebih panjang dibanding UV-Vis, sehingga energi radiasinya lebih kecil. Energi infra merah hanya dapat menyebabkan vibrasi ikatan pada molekul. Bila sinar infra merah dilewatkan melalui senyawa organik maka sebagian dari frekuensi sinar diserap, dan yang lain diteruskan ataupun ditransmisikan. Frekuensi adsorpsi IR sebagai bilangan gelombang atau *wave number* yaitu jumlah gelombang per cm.

Para ahli kimia telah memetakan ribuan spektrum infra merah dan menentukan panjang gelombang adsorpsi masing-masing gugus fungsi. Vibrasi suatu gugus fungsi spesifik pada bilangan gelombang tertentu. Dalam daerah 2000– 400 cm^{-1} tiap senyawa organik mempunyai adsorpsi yang unik, sehingga daerah tersebut sering juga disebut sebagai daerah sidik jari.

BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Farmasi Kuantitatif, Laboratorium Mikrobiologi, dan Laboratorium Fitokimia Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia, dari bulan Maret sampai Mei 2012.

3.2 Alat

Resiprocal shaker incubator (Lab-Line); Autoklaf; Jarum ose; *Branson ultrasonik*; Vial coklat; Alat-alat gelas; Sentrifugator (Kubota); Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1601); Kuvet; Tabung sentrifugasi; Vortex; Spektrofotometri FT-IR 84000 S; Timbangan analitik (AND GR-202); Pipet volume; Balon karet; *TLC-Scanner Camag-3 (Camag)*; Lempeng KLT *silica gel 60 F₂₅₄*; *chamber KLT*; *Evaporator vacum rotary*, *Ultrasonic Homogenizer (LabSonic)*; Oven Vakum.

3.3 Bahan

Standar likopen (DSM); *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (UICC); Sukrosa; Amonium sulfat (Merck); Amonium asetat (Merck); Urea (Merck); n-Propanol (Merck); n-Heksan (Merck); Etil asetat (Mallinckrodt); Metanol (Merck); Aquadest; KOH (Merck); Natrium sulfat anhidrat (Merck).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Penyiapan Larutan Standar

3.4.1.1 Isolasi Standar Likopen

Standar likopen yang didapat berupa serbuk yang terselaput, maka likopen harus dipisahkan dari selaputnya. Selaput tersebut larut dalam air, sedangkan likopen adalah senyawa non polar yang tidak larut air. Isolasi standar likopen dilakukan dengan cara serbuk standar likopen disonikasi selama ± 5 menit

dalam air hingga terdapat endapan yang tidak larut. Masukkan larutan ke dalam corong pisah berukuran 250 ml, dibilas dengan air sebanyak 3 kali dan ditambahkan 10 ml n-heksan untuk menarik likopen, kocok perlahan selama 10-15 menit. Kemudian diamkan, maka lapisan air dan n-heksan akan memisah, lalu tampung lapisan n-heksan. Tambahkan 5 ml n-heksan pada lapisan air dan kocok perlahan untuk menarik likopen kembali, lalu tampung lapisan n-heksan. Ulangi proses yang sama hingga diperoleh lapisan air yang berwarna tidak pekat lagi. Lapisan n-heksan kemudian dikumpulkan dan ditambahkan natrium sulfat anhidrat, kocok dengan vorteks beberapa menit dan diamkan. Selanjutnya lapisan n-heksan ditampung dalam cawan penguap ukuran 50 ml yang telah ditimbang berat konstan. Keringkan di dalam lemari asam pada temperatur ruang dan terlindung dari cahaya. Setelah itu diperoleh ekstrak yang lengket berwarna merah coklat. Hasil ekstraksi standar likopen ditimbang. Kemudian dihitung % perolehan kembalinya dan dibandingkan dengan yang tertera pada *Certificate of Analysis* (CA).

3.4.1.2 Pembuatan Larutan Induk Standar Likopen

Ditimbang seksama 50,0 mg standar likopen dan masukkan kedalam labu ukur 25,0 mL dan ditambahkan pelarut n-heksan, kocok hingga homogen, didapatkan larutan induk dengan konsentrasi 2000 µg/ml.

3.4.1.3 Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan induk standar likopen dipipet 6,0 ml ke dalam labu ukur 10,0 ml, lalu cukupkan volumenya dengan n-heksan. Diperoleh larutan standar likopen dengan konsentrasi 1200 µg/ml. Larutan induk standar likopen dipipet 5,0 ml ke dalam labu ukur 10,0 ml, lalu cukupkan volumenya dengan n-heksan. Diperoleh larutan standar likopen dengan konsentrasi 1000 µg/ml. Dari larutan standar likopen 1000 µg/ml dan 1200 µg/ml selanjutnya dilakukan serangkaian pengenceran, sehingga diperoleh larutan standar likopen dengan konsentrasi 300; 400 dan 500 µg/mL. Diperoleh larutan standar likopen 300; 400; 500; 1000; 1200; dan 2000 µg/ml. Larutan tersebut lalu ditotolkan sebanyak 2 µl pada lempeng kromatografi lapis tipis yang telah diaktifkan dengan pemanasan 120° C selama

30 menit, kemudian dielusi sampai garis batas. Dari hasil kromatogram, diperoleh persamaan garis linear $y = a + bx$.

3.4.2 Optimasi Kondisi Analisis

3.4.2.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum dengan Spektrofotometer UV-Vis

Buat larutan standar likopen 50 µg/ml dari larutan induk standar, lalu buat spektrumnya pada panjang gelombang 380-800. Dari spektrum serapan dapat ditentukan panjang gelombang maksimum yang memberikan serapan maksimum.

3.4.2.2 Kondisi Analisis Likopen Untuk KLT

Kondisi analisis likopen yang digunakan adalah kondisi analisis penelitian sebelumnya (Utami Nurul, 2012), yaitu dengan menggunakan alat *TLC-Scanner* Camag-3 (*Camag*), fase diam yang digunakan adalah *silica gel 60 F₂₅₄*, dan perbandingan fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v).

3.4.3 Pembuatan Medium

3.4.3.1 Pembuatan Medium Semi Sintetis untuk Inokulum (Prakultur)

Timbang 1 g *yeast extract*; 10 g glukosa; 2 g amonium sulfat; 2 g $\text{KH}_2(\text{PO}_4)$; 0,5 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,1 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Kemudian masukkan semua bahan ke dalam botol 1 L, tambahkan aquadestilata hingga volume 1 liter, lalu sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.4.3.2 Pembuatan Medium untuk Optimasi Kondisi Kultur Fermentasi

Untuk optimasi sumber karbon dibuat medium semi sintetis dengan konsentrasi sukrosa masing-masing yaitu 2,5%; 5%; 7,5%; dan 10%. Untuk optimasi sumber nitrogen dibuat medium semi sintetis dengan konsentrasi sumber karbon terpilih dan sumber nitrogen yang divariasikan yaitu amonium sulfat, amonium asetat dan urea dengan konsentrasi masing-masing 0 g/L; 1 g/L; dan 2 g/L.

3.4.4 Persiapan Sampel

3.4.4.1 Peremajaan

Isolat *Rhodotorula mucilaginosa* dari UICC dipindahkan ke medium YPD agar miring, lalu lakukan inkubasi dengan pengocokan pada kecepatan 200 rpm suhu 28°C selama 48 jam.

3.4.4.2 Penyiapan Inokulum (Prakultur)

Sebanyak 3 ose sel dimasukkan ke labu Erlenmeyer 100 ml yang mengandung 50 ml medium semi sintesis, lalu lakukan inkubasi dengan pengocokan pada kecepatan 200 rpm suhu 28°C selama 48 jam.

3.4.4.3 Optimasi Konsentrasi Sumber Karbon

Inokulum dari medium prakultur kemudian dipindahkan masing-masing sebanyak 10% v/v ke dalam Erlenmeyer 250 ml yang mengandung 100 ml medium semi sintesis dengan konsentrasi sukrosa yaitu 2,5%; 5%; 7,5%; dan 10%. Kemudian biakan dikocok dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 28°C selama 72 jam.

Setelah masa kultivasi sel kemudian dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang berisi sel dicuci dengan aquadest steril sebanyak dua kali. Tabung sentrifugasi yang berisi biomassa sel basah kemudian ditimbang, sebelumnya tabung sentrifugasi kosong ditimbang bobotnya.

Setelah itu, biomassa sel basah diekstraksi dengan cara menambahkan metanol sebanyak 5 ml, kemudian divorteks selama 5 menit dan disentrifugasi, lalu larutan ekstraktan dalam metanol dibuang. Kemudian sel diekstraksi kembali dengan n-heksana sebanyak 5 ml, divorteks dan disentrifugasi seperti cara diatas. Ekstraktan dalam n-heksana ditampung, dilakukan kembali ekstraksi dengan cara yang sama. Setelah lapisan n-heksana terkumpul dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan pelarut n-heksana hingga batas labu ukur. Sampel kemudian dianalisis dengan menggunakan alat KLT densitometri untuk mengetahui kadar likopen yang dihasilkan.

3.4.4.4 Optimasi Sumber Nitrogen

Inokulum dari medium prakultur kemudian dipindahkan masing-masing sebanyak 10% v/v ke dalam Erlenmeyer 250 ml yang mengandung 100 ml medium semi sintesis dengan konsentrasi sumber karbon terpilih dan sumber nitrogen yang divariasikan yaitu amonium sulfat, amonium asetat dan urea dengan konsentrasi masing-masing 0 g/L; 1 g/L; dan 2 g/L. Kemudian biakan dikocok dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 28°C selama 72 jam.

Setelah masa kultivasi sel kemudian dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang berisi sel dicuci dengan aquadest steril sebanyak dua kali. Tabung sentrifugasi yang berisi biomassa sel basah kemudian ditimbang, sebelumnya tabung sentrifugasi kosong ditimbang bobotnya.

Setelah itu, biomassa sel basah diekstraksi dengan cara menambahkan metanol sebanyak 5 ml, kemudian divorteks selama 5 menit dan disentrifugasi, lalu larutan ekstrak dalam metanol dibuang. Kemudian sel diekstraksi kembali dengan n-heksana sebanyak 5 ml, divorteks dan disentrifugasi seperti cara diatas. Ekstraktan dalam n-heksana ditampung, dilakukan kembali ekstraksi dengan cara yang sama. Setelah lapisan n-heksana terkumpul dimasukkan ke dalam labu ukur 10,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan pelarut n-heksana hingga batas labu ukur. Sampel kemudian dianalisis dengan menggunakan alat KLT densitometri untuk mengetahui kadar likopen yang dihasilkan.

3.4.4.5 Fermentasi Likopen pada Kondisi Kultur Terpilih

Inokulum dari medium prakultur kemudian dipindahkan sebanyak 10% v/v ke dalam Erlenmeyer 1000 ml yang mengandung 500 ml medium semi sintesis pada kondisi kultur terpilih. Pengerjaan dilakukan kuarto. Kemudian biakan dikocok dengan kecepatan 200 rpm pada suhu 28°C selama 72 jam.

Setelah masa kultivasi sel kemudian dipanen dengan cara disentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit. Supernatan dibuang dan pelet yang berisi sel dicuci dengan aquadest steril sebanyak dua kali. Tabung sentrifugasi yang berisi biomassa sel basah kemudian ditimbang, sebelumnya tabung sentrifugasi kosong ditimbang bobotnya.

3.4.5 Ekstraksi Likopen

Biomassa sel basah dibuat suspensi dan di pecah selnya dengan menggunakan alat ultrasonikator, kemudian di ekstraksi dengan pelarut n-heksana menggunakan vortex selama 10 menit dan di sentrifugasi dengan kecepatan 10000 rpm selama 15 menit. Ekstraktan n-heksana diuapkan dengan *evaporator vacum rotary*, ekstraksi dilakukan delapan kali hingga warna suspensi sel memudar. Simpan oleoresin likopen terlindung dari cahaya.

3.4.6 Isolasi dan Purifikasi Likopen dengan Reaksi Saponifikasi

Oleoresin likopen sejumlah 289,65 mg, dilarutkan dalam 5 ml n-propanol, ditambahkan dengan 1 ml larutan KOH 45% lalu ditambahkan 1 ml aquadest untuk membentuk reaksi saponifikasi perlahan-lahan pada suhu 50°C menggunakan pengaduk magnetik selama 1 jam. Setelah 1 jam, dilakukan pengenceran dengan penambahan aquadest 2 kali dari volume awal sambil diaduk dengan pengaduk magnetik pada suhu ruang selama 4 jam. Saring ekstrak saponifikasi yang telah diencerkan menggunakan *filter glass* untuk mendapatkan senyawa likopen. Likopen yang telah dikumpulkan dicuci dengan air hangat dan dikeringkan pada suhu 40°C.

3.4.7 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen

3.4.7.1 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen secara Spektrofotometri UV-Vis

Ditimbang seksama 10,0 mg senyawa hasil isolasi likopen masukkan ke labu ukur 10,0 ml dan ditambahkan pelarut n-heksana hingga diperoleh larutan 1000 µg/ml, lalu pipet 5,0 ml masukkan ke labu ukur 10,0 ml dan tambahkan pelarut n-heksan, diperoleh larutan 500 µg/ml, lalu pipet 1,0 ml dari larutan 500 µg/ml masukkan ke labu ukur 10,0 ml dan tambahkan pelarut n-heksan, diperoleh larutan 50 µg/ml. Buat spektrum serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Bandingkan dengan spektrum standar).

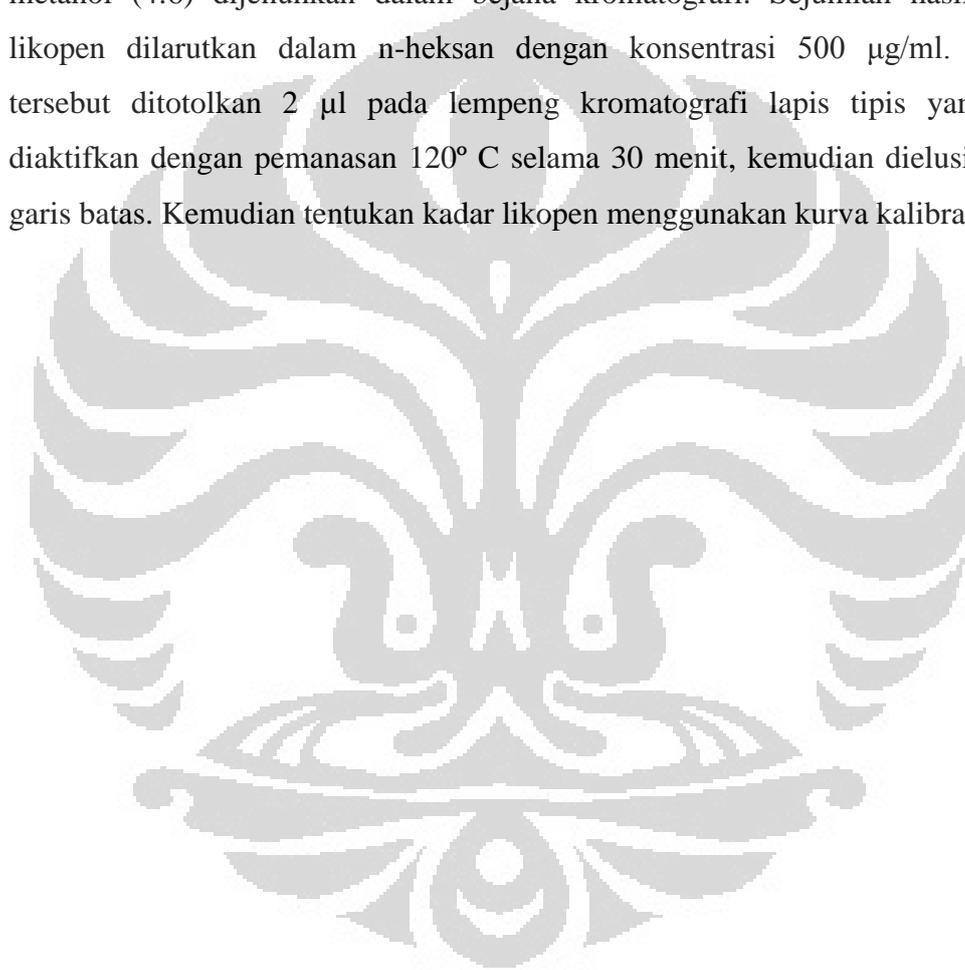
3.4.7.2 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen secara Spektrofotometri IR

Ditimbang seksama 5,0 mg senyawa hasil isolasi likopen dan 45,0 mg kaliumm bromida yang telah dikeringkan selama 24 jam pada suhu 105°C, lalu

gerus hingga homogen. Gerus kalium bromida yang telah dikeringkan, masukkan ke dalam wadah sampel analisis dan buat background menggunakan kalium bromida. Analisis campuran pada rentang bilangan gelombang 4000 cm^{-1} - 400 cm^{-1} (Bandingkan dengan standar).

3.4.7.3 Analisis Hasil Isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri

Fase diam yang digunakan adalah *silica gel* 60 F₂₅₄. Eluen etil asetat-metanol (4:6) dijenuhkan dalam bejana kromatografi. Sejumlah hasil isolasi likopen dilarutkan dalam n-heksan dengan konsentrasi 500 µg/ml. Larutan tersebut ditotolkan 2 µl pada lempeng kromatografi lapis tipis yang telah diaktifkan dengan pemanasan 120° C selama 30 menit, kemudian dielusi sampai garis batas. Kemudian tentukan kadar likopen menggunakan kurva kalibrasi.



BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Penyiapan Standar Likopen

Ekstrak standar likopen yang didapat berupa padatan lengket berwarna merah coklat. Bila dilarutkan dalam pelarut n-heksana, larutannya berwarna kuning.

Dari ekstraksi standar likopen yang ditimbang sejumlah 101,2 mg yang dilakukan triplo didapat % bobot yang diperoleh kembali sebesar 5,27%, tidak berbeda secara bermakna dengan yang tertera pada *Certificate of Analysis (CA)*, yaitu 5,30%. Hasil perhitungan tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.1. Untuk selanjutnya, penimbangan standar likopen menggunakan hasil konversi yang didapat dari perhitungan tersebut.

4.1.2. Pembuatan Kurva Kalibrasi

Persamaan Linier Untuk likopen adalah $y = 1,4256x - 237,08$ dengan koefisien korelasi, r adalah 0,9991. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel.4.2 dan Gambar. 4.5.

4.1.3 Optimasi Kondisi Analisis

4.1.3.1 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum secara Spektrofotometri UV-VIS

Larutan standar dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$ dalam pelarut n-heksana memberikan panjang gelombang maksimum pada 473 nm; dimana memberikan serapan maksimum yaitu 0,5997. Gambar spektrum serapan dari Likopen dapat dilihat pada Gambar 4.1.

4.1.3.2 Kondisi Analisis Likopen untuk KLT

Kondisi analisis likopen yang digunakan adalah kondisi analisis penelitian sebelumnya (Utami Nurul, 2012), yaitu dengan menggunakan alat *TLC-Scanner Camag-3 (Camag)*, fase diam yang digunakan adalah *silica gel 60 F₂₅₄*, dan perbandingan fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v) dengan volume penotolan 2 μl . Hasil kromatogram larutan standar likopen dapat dilihat pada gambar 4.2.

4.1.4 Persiapan Sampel

4.1.4.1 Optimasi Konsentrasi Sumber Karbon

Optimasi kultur fermentasi likopen dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 pada kondisi sumber karbon sukrosa medium fermentasi dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu 2,5%; 5%; 7,5%; dan 10%. Hasil menunjukkan bahwa sukrosa dengan

konsentrasi 2,5% memberikan hasil yang optimum yaitu 3191,20 $\mu\text{g/g}$ pada nilai Rf 0.59 dalam hal produksi senyawa likopen. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel.4.3 dan Gambar 4.3.

4.1.4.2 Optimasi Sumber Nitrogen

Optimasi kultur fermentasi likopen dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 dengan konsentrasi sumber karbon yang optimum yaitu sukrosa 2,5% pada kondisi medium fermentasi dengan sumber karbon amonium sulfat, amonium asetat, dan urea dengan konsentrasi yang bervariasi yaitu 0 g/l, 1 g/l, dan 2 g/l. Hasil menunjukkan bahwa amonium sulfat dengan konsentrasi 2 g/l memberikan hasil yang optimum yaitu 6003,87 $\mu\text{g/g}$ pada nilai Rf 0,59 dalam hal produksi senyawa likopen. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada Tabel.4.4 dan Gambar 4.4.

4.1.4.3 Fermentasi likopen menggunakan kultur terpilih

Fermentasi likopen menggunakan kultur terpilih yaitu sukrosa 2,5% dan amonium sulfat 2 g/l diperoleh bobot sel basah yaitu 80,5786 gram.

4.1.5 Isolasi dan Purifikasi Likopen

Hasil isolasi dan purifikasi likopen dari oleoresin yang berasal dari sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* menghasilkan produk berupa serbuk berwarna merah (Gambar 4.6). Data hasil isolasi dan purifikasi dapat dilihat pada Tabel 4.5- Tabel 4.7, hasil isolasi dan purifikasi dapat dilihat pada Gambar 4.11.

4.1.6 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen

4.1.6.1 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen secara Spektrofotometri UV-Vis

Larutan sampel dengan konsentrasi 50 $\mu\text{g/ml}$ dalam pelarut n-heksana memberikan panjang gelombang maksimum pada 472 nm, dimana memberikan absorpsi maksimum yaitu 0,2586. Gambar spektrum serapan dari sampel dapat dilihat pada Gambar 4.7.

4.1.6.2 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen secara Spektrofotometri IR

Data spektrum IR dapat dilihat puncak serapan pada daerah bilangan gelombang sebagai berikut : 956.72 cm^{-1} ; 1373.36 cm^{-1} ; 1456.30 cm^{-1} ; 1647.26 cm^{-1} ; 1743.71 cm^{-1} ; 2879.82 cm^{-1} ; 2910.68 cm^{-1} ; 3392.90 cm^{-1} . Gambar spektrum IR dapat dilihat pada Gambar 4.9.

4.1.6.3 Analisis Hasil Isolasi secara KLT Densitometri

Analisa kualitatif dan kuantitatif secara kromatografi Lapis Tipis (KLT) densitometri dilakukan dengan menggunakan fase gerak etil asetat-metanol (4:6). Hasil elusi senyawa hasil isolasi dibandingkan dengan standar likopen. Hasil kromatogram KLT dapat dilihat pada Gambar. 4.11. Hasil Penetapan kadar dapat dilihat pada Tabel 4.7.

4.2 Pembahasan

4.2.1. Penanganan Standar Likopen

Pada penelitian ini menggunakan standar likopen yang terselaput dimana selaput standar likopen dapat larut dalam air sedangkan likopen tidak larut dalam air. Oleh karena itu, pemisahannya dilakukan di corong pisah menggunakan dua pelarut yaitu aquabidest dan n-heksan. Likopen akan tertarik pada lapisan n-heksan. Setelah lapisan air dipisahkan dari lapisan n-heksan, kemudian tambahkan Sodium Sulfat Anhidrat pada lapisan n-heksan untuk menjamin tidak adanya lapisan air di dalam ekstrak. Selanjutnya diuapkan di lemari asam. Ekstrak standar yang didapat kemudian dilarutkan dalam pelarut n-heksan.

4.2.2. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum secara Spektrofotometri UV-VIS

Ekstrak standar yang telah dilarutkan dalam n-heksan, diukur dengan spektrofotometri UV-Vis, didapat panjang gelombang maksimum 447, 473, dan 504 nm. Hal ini karena elektron-elektron yang mengalami transisi energi elektron pada waktu terjadi penyerapan cahaya yaitu transisi $\pi - \pi^*$ yang ditandai dengan intensitas serapan yang kuat, transisi $n - \pi^*$ yang ditandai oleh intensitas serapan yang rendah (Harmita, 2006). Panjang gelombang yang diperoleh masih

memenuhi rentang panjang gelombang maksimum likopen pada literatur yaitu 446, 472, 505 nm (O'Neil, 2006).

Panjang gelombang maksimum yang dipilih adalah 473 nm tidak berbeda secara bermakna dengan panjang gelombang literatur yaitu 472. Panjang gelombang maksimum 473 nm dipilih karena pada panjang gelombang tersebut serapan likopen paling tinggi bila dibandingkan dengan kedua panjang gelombang yang lain, dimana serapan paling tinggi tersebut sangat sensitif, adanya sedikit perubahan konsentrasi menyebabkan perubahan serapan yang cukup besar. Dan juga dapat diabaikan serapannya bila terjadi sedikit pergeseran panjang gelombang karena puncak serapan kurvanya makin landai (Harmita, 2006).

4.2.3. Kurva Kalibrasi Dan Linearitas Likopen

Pada pembuatan kurva kalibrasi dan linearitas dibuat larutan standar likopen dengan berbagai konsentrasi yaitu 300; 400; 500; 1000; 1200; dan 2000 µg/ml. Larutan tersebut lalu ditotolkan sebanyak 2 µl pada lempeng kromatografi lapis tipis yang telah diaktifkan dengan pemanasan 120° C selama 30 menit, kemudian dielusi sampai garis batas. Dari hasil kromatogram, diperoleh persamaan garis linear $y = a + bx$.

Dari data yang diperoleh didapatkan persamaan regresi linier untuk likopen yaitu, $y = 1,4256x - 237,08$ dengan koefisien korelasi (r) adalah 0,9991.

4.2.4 Persiapan Sampel

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan adalah khamir *Rhodotorula mucilaginosa* yang telah diisoasi oleh UICC Departemen Biologi FMIPA UI dari perairan Muara Angke dan Pulau Rambut, dimana diketahui bahwa spesies khamir *Rhodotorula* dapat menghasilkan senyawa likopen (Frengova & Beshkova, 2009). Penelitian sebelumnya (Fuziati, 2010), menunjukkan bahwa *Rhodotorula mucilaginosa* diduga lebih potensial sebagai sumber likopen dibandingkan dengan spesies *Rhodotorula* lainnya. Hal ini ditunjukkan dengan warna kultur yang berwarna merah dibandingkan dengan larutan standar likopen.

Dalam penelitian ini, sebelumnya dilakukan peremajaan dan *stock culture* khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 dengan memindahkan khamir ke

medium baru yaitu YPD agar yang dilakukan secara berkala, lalu diinkubasi selama 48 jam dengan pengocokan 200 rpm pada suhu 28°C. Hal ini dilakukan untuk memperpanjang rentang waktu penyimpanan khamir. Isolat yang dipelihara dalam medium kultur umumnya hanya bertahan kurang dari enam bulan, sehingga perlu dilakukan peremajaan (Ilyas, M., Kanti, A., dan Rahmansyah, M, 2007). Selanjutnya dilakukan optimasi kultur fermentasi dalam produksi likopen yaitu dengan melakukan optimasi konsentrasi karbon dan optimasi sumber nitrogen. Peningkatan produksi likopen dari khamir dilakukan dengan optimasi kondisi kulturoptimasi kultur fermentasi dalam produksi likopen yaitu dengan melakukan optimasi konsentrasi karbon dan optimasi sumber nitrogen. Peningkatan produksi likopen dari khamir dilakukan dengan optimasi kondisi kultur menggunakan sumber karbon dan nitrogen yang sesuai (Aksu & Eren, 2005).

Fermentasi tersebut dilakukan pada suhu 28°C dengan kecepatan pengocokan 200 rpm selama 72 jam. Khamir *Rhodotorula mucilaginosa* merupakan khamir mesofilik. Khamir mesofilik akan tumbuh baik pada suhu 20-30 °C (Deak, 2006). Pengocokan dilakukan untuk meningkatkan aerasi yang bertujuan dalam penyediaan oksigen, dimana khamir aerob memerlukan oksigen untuk pertumbuhan (Gandjar, 2006). Fermentasi pada jamur karotenogenik dilakukan selama 72 jam dengan kecepatan pengocokan 200 rpm (Maldonade, A. R. P, & D., 2007). Volume inokulum yang ditambahkan untuk fermentasi adalah 10% dari volume total, dimana volume inokulum yang umum digunakan adalah 3%-10% dari volume total (Stanbury, Whitaker, & S, 1995).

Optimasi konsentrasi karbon menggunakan sumber karbon sukrosa yang konsentrasinya divariasikan pada 2,5%; 5%; 7,5%; dan 10%. Setelah masa fermentasi, sel disentrifugasi untuk memisahkannya dari supernatan, sel yang terkumpul dicuci dengan aquadest steril untuk menghilangkan sisa medium yang tertinggal. Kemudian sel diekstraksi dengan menggunakan metanol dan n-heksan untuk mendapatkan senyawa likopen yang berada di dalam sel khamir. Ekstraksi menggunakan metanol untuk melarutkan senyawa yang bersifat polar, sedangkan ekstraksi dengan n-heksan yang merupakan pelarut nonpolar untuk menarik likopen dalam sel khamir. Ekstraksi dibantu dengan alat vorteks untuk menarik likopen dari dalam sel dan alat sentrifugasi untuk memisahkan sel dan ekstrak,

karena jika dipisahkan dengan cara didiamkan memerlukan waktu yang lama dan pemisahan tidak sempurna. Selanjutnya hasil ekstrak likopen dianalisis menggunakan alat KLT densitometri.

Hasil optimasi konsentrasi karbon sukrosa 2,5% menunjukkan produksi senyawa likopen yang lebih optimum yaitu 3191,20 $\mu\text{g/g}$ pada nilai Rf 0.59 dibandingkan dengan konsentrasi sukrosa lainnya. Pada penelitian Aksu dan Eren, konsentrasi karotenoid tertinggi (89,0 mg karotenoid total per liter kaldu fermentasi) diperoleh pada konsentrasi 20 g l^{-1} sukrosa molase digunakan sebagai sumber karbon (Aksu & Eren, 2005).

Optimasi selanjutnya adalah optimasi sumber nitrogen menggunakan medium dengan konsentrasi sumber karbon sukrosa 2,5%, dimana menunjukkan yang optimum yaitu menggunakan sumber nitrogen amonium sulfat 2 g/l dalam produksi senyawa likopen yaitu 6003,87 $\mu\text{g/g}$ pada nilai Rf 0.59 dibandingkan dengan sumber nitrogen lainnya. Pada penelitian Aksu dan Eren, konsentrasi ammonium sulfat 2 g l^{-1} memberikan produksi karotenoid maksimum. Amonium sulfat merupakan sumber nitrogen anorganik yang paling umum digunakan dalam medium pertumbuhan khamir dalam perannya sebagai sumber nitrogen dan sulfur. Amonium sulfat akan terhidrolisis menjadi amonium hidroksida dan asam sulfat (Brock, M. T, J. M, & Parker, 1994).

Produksi pigmen karotenoid oleh *Rhodotorula mucilaginosa* sangat terkait dengan pertumbuhan, walaupun peningkatan produksi pigmen karotenoid tidak tepat sama dengan peningkatan biomasanya. Keberadaan nitrogen dalam media tidak berpengaruh langsung terhadap produksi pigmen karotenoid, namun perbandingan konsentrasi karbon dan nitrogen (C/N ratio) akan sangat mempengaruhi proses produksi pigmen karotenoid dalam sel. Ratio yang rendah dalam medium akan menghasilkan produksi likopen yang tinggi. Dalam penelitian Park dan Kim didapatkan C/N ratio yang tepat untuk produksi pigmen yang optimum pada khamir *R.glutinis*, sementara pada C/N ratio yang lebih tinggi pigmen karotenoid diproduksi lebih sedikit. Pada saat C/N ratio dalam medium tinggi, jalur metabolik sel akan beralih ke metabolisme eksopolisakarida (EPS) dan lipid sehingga menyebabkan pigmen karotenoid tidak disintesis. Hal ini

menunjukkan bahwa sintesis pigmen karotenoid tertinggi dihasilkan dari kondisi lingkungan yang memiliki sumber nitrogen yang cukup (Park & E.Y, 2002).

Setelah optimasi konsentrasi karbon dan sumber nitrogen, selanjutnya adalah melakukan fermentasi dengan kultur terpilih yaitu dengan sukrosa 2,5% dan amonium sulfat 2 g/l. Fermentasi dengan kultur terpilih yaitu kultur yang optimum untuk perbanyakkan biomasa sel yang mengandung likopen yang akan digunakan dalam isolasi dan purifikasi, dimana didapat biomassa sel 80,5786 gram.

4.2.5 Isolasi dan Purifikasi Likopen

Sebelum dilakukan isolasi dan purifikasi, terlebih dahulu dilakukan ekstraksi sel dengan menggunakan pelarut n-heksan. Biomassa sel di pecah terlebih dahulu menggunakan alat ultrasonikator sebelum dilakukan ekstraksi untuk meningkatkan hasil ekstraksi likopen. Pemecahan sel dilakukan karena likopen berada di intrasel khamir. Ekstraktan n-heksan yang didapat diuapkan dengan *Evaporator vacum rotary* sehingga diperoleh oleoresin likopen.

Isolasi dan Purifikasi likopen dilakukan dengan reaksi saponifikasi, dimana digunakan perbandingan bahan-bahan yang digunakan adalah 289,65 mg, dilarutkan dalam 5 ml n-propanol, ditambahkan dengan 1 ml larutan KOH 45% lalu ditambahkan 1 ml aquadest (Ausich *et al.*,1999). Reaksi saponifikasi, dapat juga digunakan NaOH atau alkali lainnya selain KOH, tetapi bentuk sabun kalium lebih diinginkan karena KOH umumnya lebih terdispersi dalam larutan berair daripada NaOH, dan NH₄OH cenderung mudah menguap pada temperatur tinggi.

Pada penelitian ini, Isolasi dan purifikasi likopen menggunakan propanol pada suhu 50°C berdasarkan hasil optimasi penelitian terdahulu yang menghasilkan kadar likopen yang paling optimum pada kondisi tersebut (Utami Nurul, 2011).

Hasil dari isolasi berupa serbuk merah keoklatan dengan bobot 19,7 mg. Hasil isolasi tersebut selanjutnya dilakukan karakterisasi dengan Spektrofotometer Uv-Vis, Spektrofotometer IR, dan dilakukan analisis dengan KLT Densitometri.

4.2.6 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen

4.2.6.1 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen secara Spektrofotometri UV-Vis

Untuk mengetahui senyawa hasil Isolasi yang diperoleh merupakan senyawa yang murni bisa dilakukan uji kemurnian senyawa dengan menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis dimana dapat dilihat kemurniannya dari spektrum serapan sampel hasil isolasi dibandingkan dengan spektrum serapan standar. Dilihat dari spektrum serapan sampel hasil isolasi terdapat spektrum serapan yang serupa dengan standar yaitu tiga puncak yang memiliki panjang gelombang 446, 472, 502 nm, maka senyawa yang terdapat dalam sampel hasil isolasi merupakan senyawa likopen.

4.2.6.2 Karakterisasi Hasil Isolasi Likopen secara Spektrofotometri IR

Data spektrum sampel yang dianalisis dengan mencermati puncak serapan gelombang yang diperlihatkan puncak serapan pada daerah bilangan gelombang sebagai berikut : $956,72\text{ cm}^{-1}$; $1373,36\text{ cm}^{-1}$; $1456,30\text{ cm}^{-1}$; $1647,26\text{ cm}^{-1}$; $1743,71\text{ cm}^{-1}$; $2879,82\text{ cm}^{-1}$; $2910,68\text{ cm}^{-1}$; $3392,90\text{ cm}^{-1}$.

Spektrum dianalisis dengan mencermati puncak serapan gelombang yang diperlihatkan data spektrum puncak serapan pada bilangan gelombang sebagai berikut : bilangan gelombang $956,72\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus R-CH=CH-R pada rantai likopen. Bilangan gelombang $1373,36\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus $-\text{CH}_3$ pada rantai likopen. Bilangan gelombang $1456,30\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi bending dari $-\text{CH}_2-$ pada rantai likopen. Bilangan gelombang $1647,26\text{ cm}^{-1}$ dan $1743,71\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya ikatan C=C pada rantai likopen. Bilangan gelombang $2879,82\text{ cm}^{-1}$ dan $2910,68\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus C-H pada rantai likopen. Bilangan gelombang $3392,90\text{ cm}^{-1}$ kemungkinan gugus O-H dari uap air yang terikat pada likopen.

Data spektrum standar yang dianalisis dengan mencermati puncak serapan gelombang yang diperlihatkan puncak serapan pada daerah bilangan gelombang sebagai berikut : $956,72\text{ cm}^{-1}$; $1373,36\text{ cm}^{-1}$; $1456,30\text{ cm}^{-1}$; $1647,26\text{ cm}^{-1}$; $1743,71\text{ cm}^{-1}$; $2852,81\text{ cm}^{-1}$; $2920,32\text{ cm}^{-1}$; $3392,90\text{ cm}^{-1}$ (Gambar 4.8). Dilihat dari hasil tumpang tindih (*overlay*) spektrum IR hasil isolasi likopen dan standar likopen relatif memiliki kesamaan bentuk spektrum (Gambar 4.10).

4.2.6.3 Analisis kualitatif hasil isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri

Dari hasil isolasi senyawa likopen dilakukan analisa secara kualitatif dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis Densitometri untuk mengetahui senyawa hasil Isolasi yang diperoleh merupakan senyawa yang murni maka dilakukan uji kemurnian senyawa. Fase gerak yang dipilih harus bisa memisahkan dengan baik dan menghasilkan Rf yang sama dengan standar likopen. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat-metanol (4:6 v/v) dengan volume penotolan 2 µl. Hasil isolasi dianalisa secara kualitatif dengan membandingkan nilai Rf yang didapat dengan nilai Rf yang dimiliki oleh standar likopen. Dari hasil analisa diperoleh bahwa hasil isolasi likopen dan standar likopen memiliki nilai Rf masing-masing yaitu 0,59 dan 0,60. Dilihat dari nilai Rf yang didapat memiliki kemiripan dengan standar, maka senyawa yang terdapat dalam sampel hasil isolasi merupakan senyawa likopen.

4.2.6.4 Penetapan kadar hasil isolasi likopen secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri

Penetapan kadar likopen hasil isolasi dilakukan pada kondisi analisis optimum menggunakan fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v) dengan volume penotolan 2 µl. Berdasarkan penelitian ini dihasilkan kadar likopen dari sampel adalah 18,67%, sedangkan penelitian sebelumnya (Utami Nurul, 2012) isolasi likopen dengan pelarut propanol pada temperatur 50°C menghasilkan kadar likopen 21,83%. Kadar yang diperoleh lebih kecil dari penelitian sebelumnya, hal ini dapat dikarenakan sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari mikroorganisme yaitu khamir *Rhodotorula mucilaginosa* yang berbeda dengan penelitian sebelumnya yaitu dari tumbuhan tomat dan dapat juga dikarenakan sampel oleoresin yang digunakan pada penelitian tersebut lebih banyak dibandingkan dengan penelitian ini. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ausich *et al.*, 1999 isolasi likopen dari tomat dengan pelarut propilen glikol pada temperatur 50°C menghasilkan kadar likopen sebesar 66%.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- 5.1.1. Kondisi optimum kultur fermentasi likopen dari *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 pada medium semi sintesis dengan konsentrasi karbon sukrosa 2,5% dan sumber nitrogen amonium sulfat 2g/l (kadar likopen : 6003,87 $\mu\text{g/g}$).
- 5.1.2. Senyawa hasil isolasi dan purifikasi berupa serbuk merah kecoklatan merupakan likopen dengan kadar yaitu 18,67%.
- 5.1.3. Hasil Karakterisasi likopen hasil isolasi, yaitu :
 - 5.1.3.1. Karakterisasi hasil isolasi likopen secara Spektrofotometri Uv-Vis terdapat spektrum serapan yang serupa dengan standar yaitu tiga puncak yang memiliki panjang gelombang 446, 472, 502 nm.
 - 5.1.3.2. Karakterisasi hasil isolasi likopen secara Spektrofotometri IR terdapat spektrum IR isolat likopen yang dibuat menunjukkan puncak-puncak gugusan yang identik dengan standar.
 - 5.1.3.3. Analisis kualitatif hasil isolasi secara Kromatografi Lapis Tipis Densitometri didapat nilai Rf yaitu 0,59.

5.2. Saran

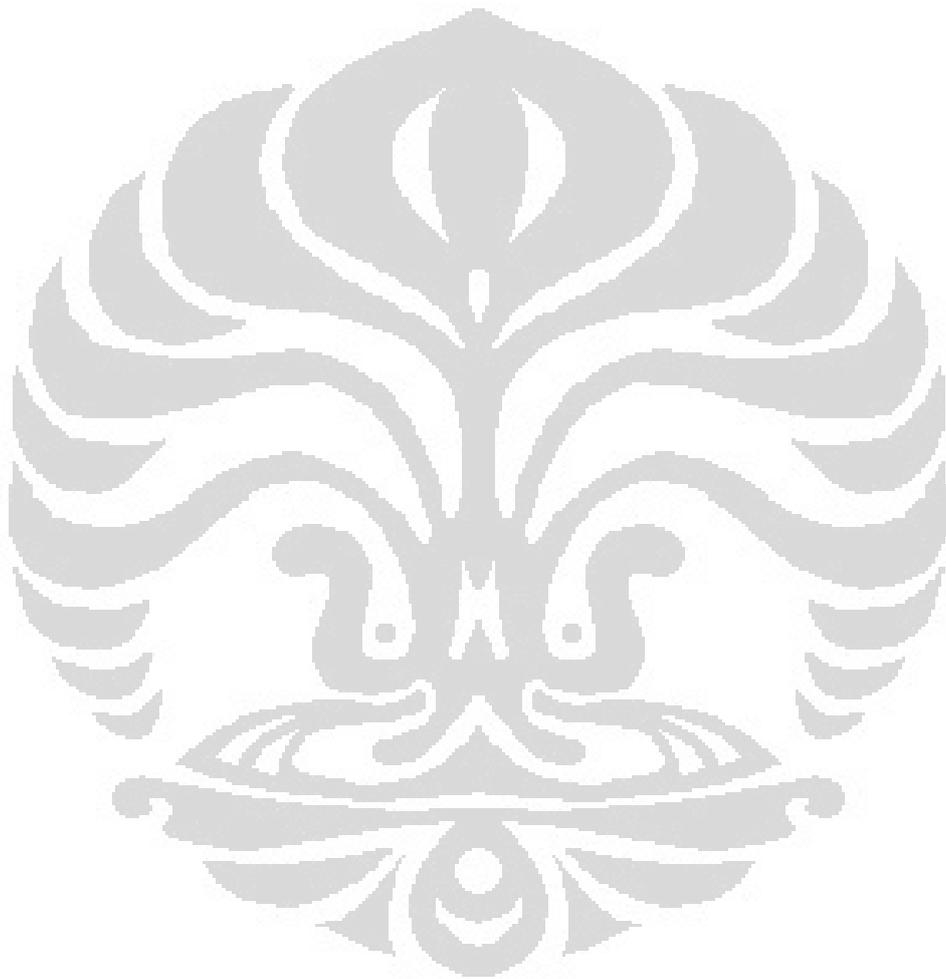
Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan optimasi pengeringan dalam proses purifikasi likopen.

DAFTARACUAN

- Agarwal, S., & Rao, A. V. (2000). Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *Can. Med. Assoc. J*, 6, 734-744.
- Aksu, Z., & Eren, A. T. (2005). Carotenoids production by the yeast *Rhodotorula mucilaginosa*: Use of agricultural wastes as a carbon source. *Process. Biochem*, 40, 2985-2991.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W., & Blackwell, M. (1986). *Introductory Mycology* (4 ed.). New York: John Wiley & Sons.
- Ausich, R. L., Sanders, D. J., Moines, D., & Iowa. (1999). *Patent No. 5,858,70*. United States Patent.
- Brock, T., Madigan, T. M., Partinko, J., & Parker, J. (1994). *Biology of Microorganism* (7 ed.). New Jersey: Prentice-Hall International.Inc.
- Deak, T. (2006). Environmental factors influencing yeasts. (C. Rosa, & G. Peter, Eds.) *The yeast handbook : Biodiversity and ecophysiology of yeast* , 155-174.
- Fadilah, U. N. (2012). *Isolasi Dan Purifikasi Likopen Dari Buah Tomat Dan Semangka*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Fardiaz, S. (1992). *Fisiologi Fermentasi*. Bogor: Pusat Antar Universitas.
- Frengova, G. I., & Beshkova, D. M. (2009). Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance. *J. Ind. Microbiol. Biot*, 36, 163-180.
- Frengova, G., Simova, E., & Beshkova, D. (1997). Caroteno-protein and Exopolysaccharide Production by Co-Cultures of *Rhodotorula glutinis* and *Lactobacillus helveticus*. *J. Ind. Microbiol. Biot*, 18, 272-277.
- Fried, Bernard and Joseph Sherma. (1996). *Practical Thin Layer Chromatography, A Multidisciplinary Approach*. . USA: CRC Press.
- Furniss, B. S., Hannaford, A. J., Smith, P. W., & Tatchell, A. R. (1989). *Vogel's textbook of practical organic chemistry*. (5, Ed.) England: Longman Scientific & Technical.
- Fuziati. (2010). *Optimasi Kultur Fermentasi Empat Spesies Rhodotorula Penghasil Likopen*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.

- Gandjar, I. (2006). *Mikrobiologi Dasar dan Terapan*. Jakarta: Yayasan Obor Indonesia.
- Gritter, R.J. (1991). *Pengantar Kromatografi*. Bandung: ITB.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Ilyas, M., Kanti, A., dan Rahmansyah, M. (2007). *Teknik Preservasi Fungi*. Jakarta : LIPI Press.
- Jay, J. M. (2000). *Modern Food Microbiology*. Maryland: Aspen Publishers, Inc.
- Kailaku, S. I., Dewandari, K. T., & Sunarmani. (2007). Potensi Likopen dalam Tomat untuk Kesehatan. *Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian* , 3.
- Libkind, D., & Broock, M. V. (2006). Biomassa and carotenoid pigment production by patagonian native yeasts. *World. J. Microb. Biot*, 687-692.
- Maldonade, I. R., A. R. P, S., & D. B. (2007). Selection and Characterization of Carotenoid Producing Yeast from Campinas Regon, Brazil. *J. Microbiol*, 38, 65-70.
- OH, J., Jeong, H., & OH, S. (2009). Characterization of optimal growth conditions and carotenoid production of strain *Rhodotorula mucilaginosa* HP isolated from larvae of *Pieris rapae*. *Entomol. Research* , 39 (6), 380-387.
- O'Neil, Maryadale J. (editor). 2006. *The Merck Index. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals. 14th Edition*. N.J., USA : Merck & Co., Inc.. Hal : 630, 974-975 dan 6973.
- Park, P., & E.Y, K. (2002). Statistical Optimization of Culture Medium for Enhanced Carotenoid Production from *Rhodotorula glutinis*. *J. Biotechnol*, 17, 44-48.
- Pine, H, Stanley., *et al.* (1988). *Kimia Organik I*. Bandung: ITB.
- S, E.G.Giwangkar. (2007). *Spektrofotometri Infra Merah*. http://www.chem-is-try.org/artikel_kimia/kimia_analisis/spektrofotometri_infra_merah/.
Diunduh pada 17 januari 2012.
- Soebagio, B. E., Ibnu, M. S., Widarti, H. R., & Munzil. (2005). *Kimia Analitik II*. Malang: Universitas Negeri Malang.
- Stanbury, P. F., Whitaker, A., & S, J. H. (1995). Principles of Fermentation Technology. (2, Ed.) *Elsevier Science* , 357.

Sudrajat, S. S., & Gunawan, I. (2003, April 5). Likopen (Lycopene). *Majalah Giji Medik Indonesia* , 2, 7-8.





GAMBAR



Gambar. 3.1. Alat Spektrofotometri UV-Vis (Shimadzu UV-1601)



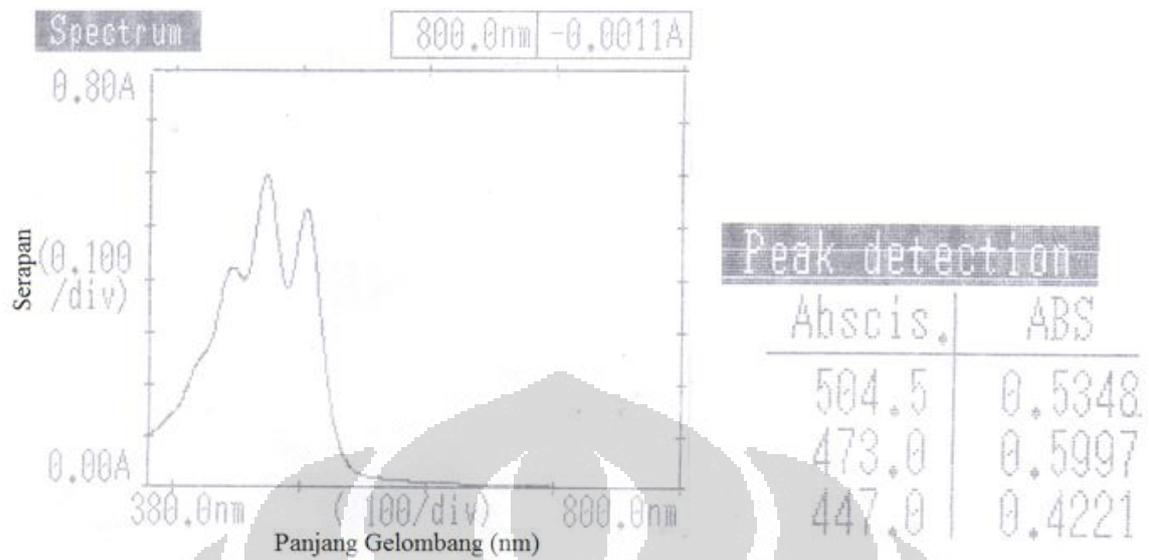
Gambar .3.2. Alat *TLC-Scanner 3* (CAMAG)



Gambar 3.3. Alat oven vakum



Gambar 3.4. Alat *Ultrasonic Homogenizer (LabSonic)*

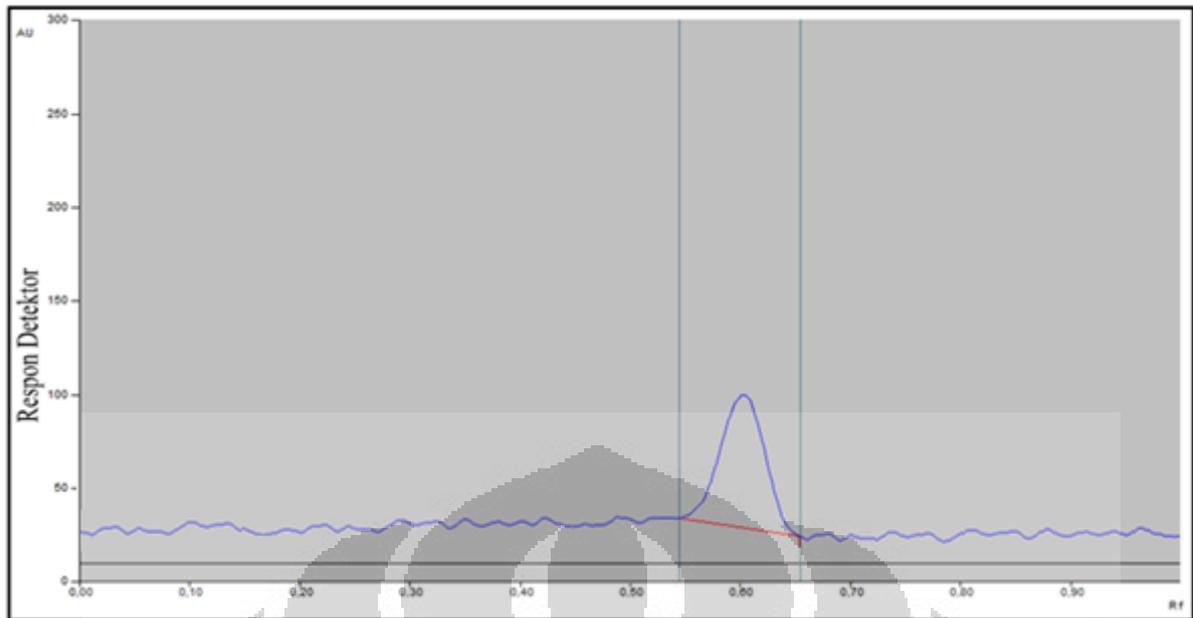


Keterangan :

Panjang Gelombang : 473 nm

Serapan : 0,5997

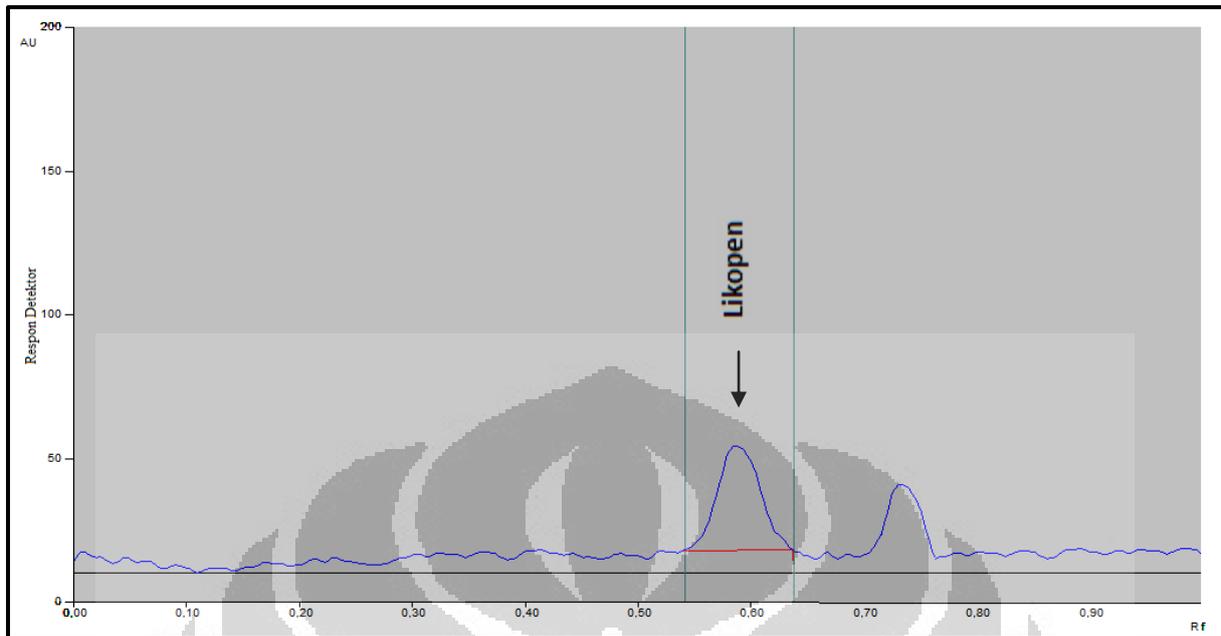
Gambar 4.1. Spektrum serapan standar likopen 50 µg/ml dalam n-heksan



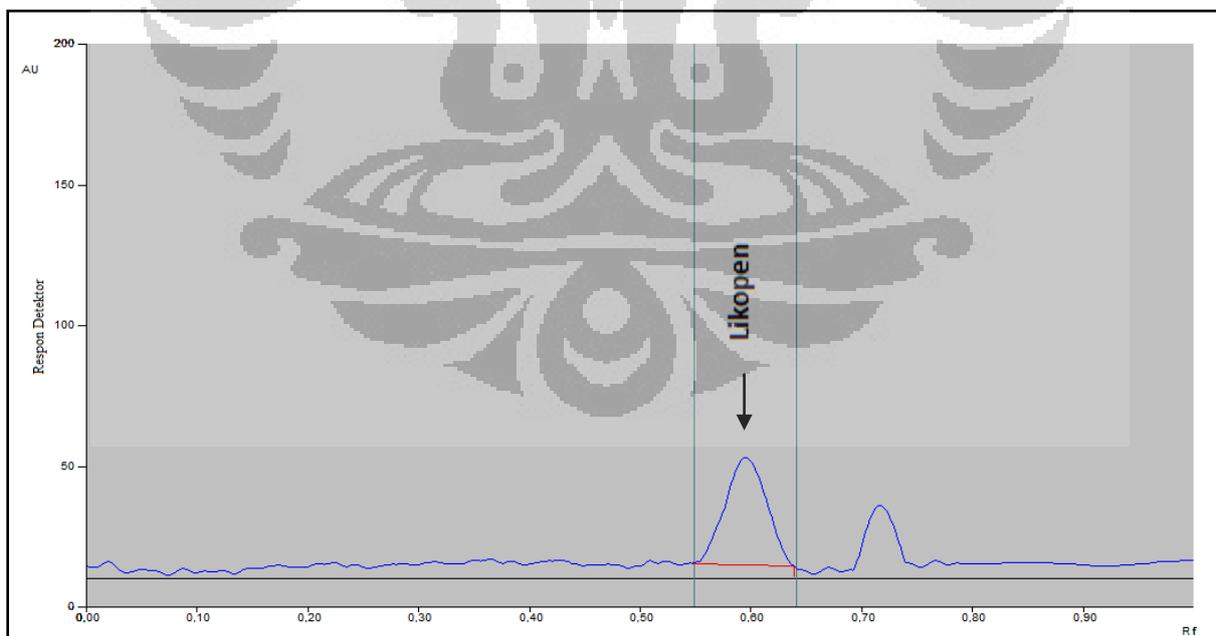
Kondisi Analisis:

Alat KLT densitometri (*Camag-3*), volume penotolan 2 μ l, fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v), pada panjang gelombang 473 nm.

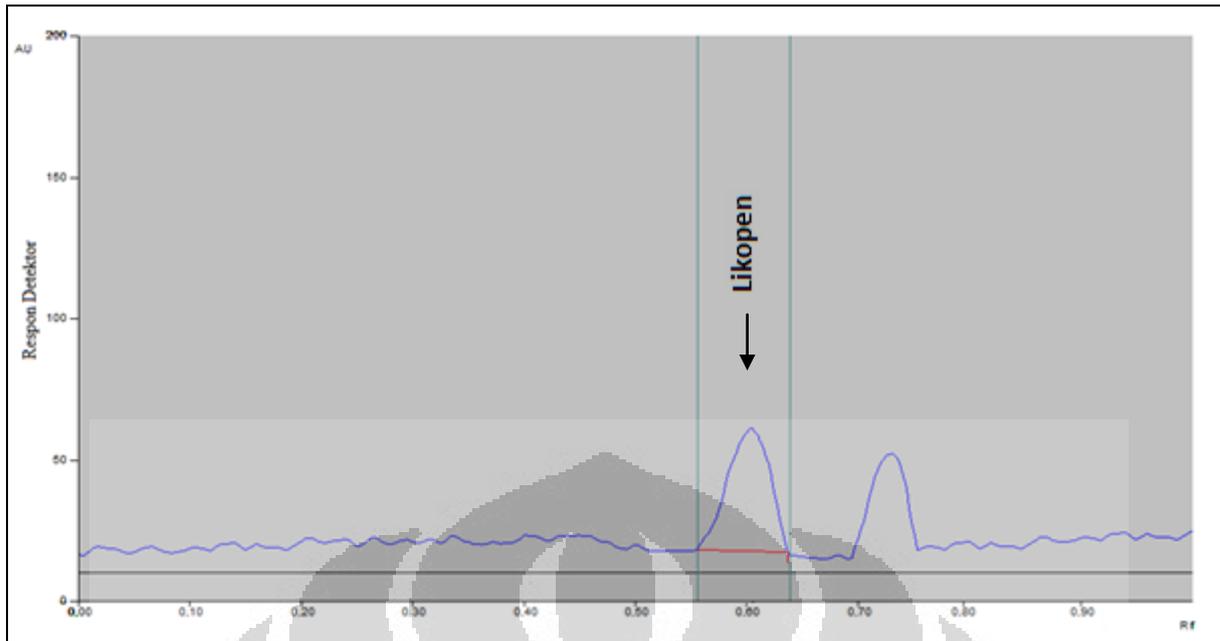
Gambar 4.2. Kromatogram standar likopen 500 μ g/ml dengan nilai Rf 0,60



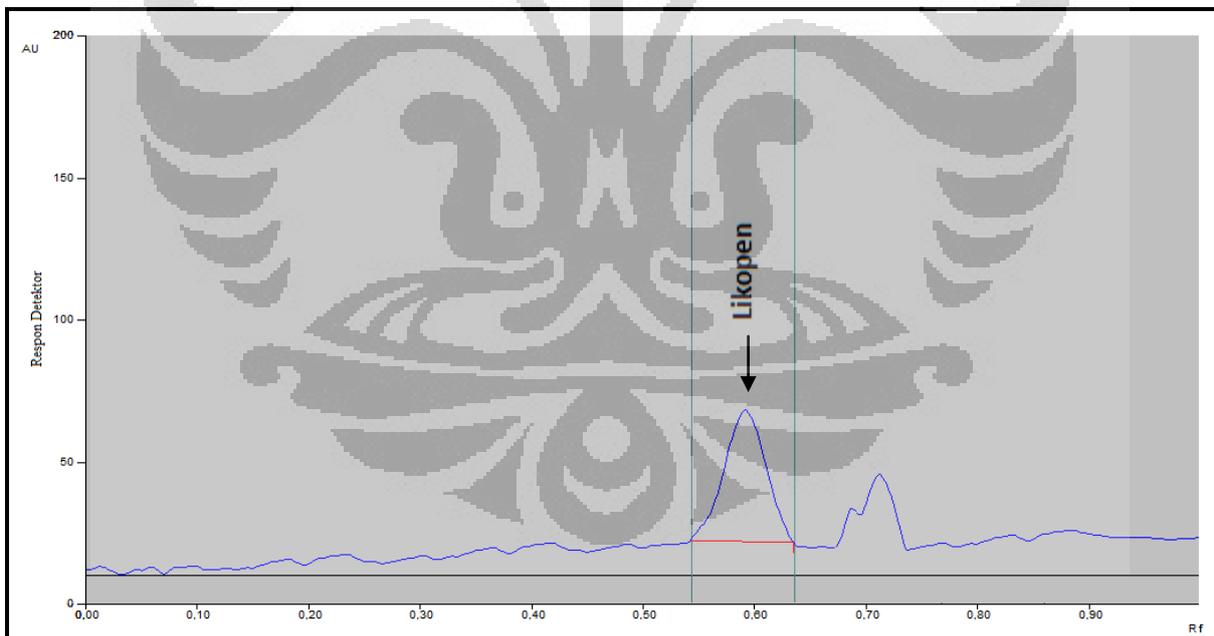
Gambar 4.3a. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 2,5%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



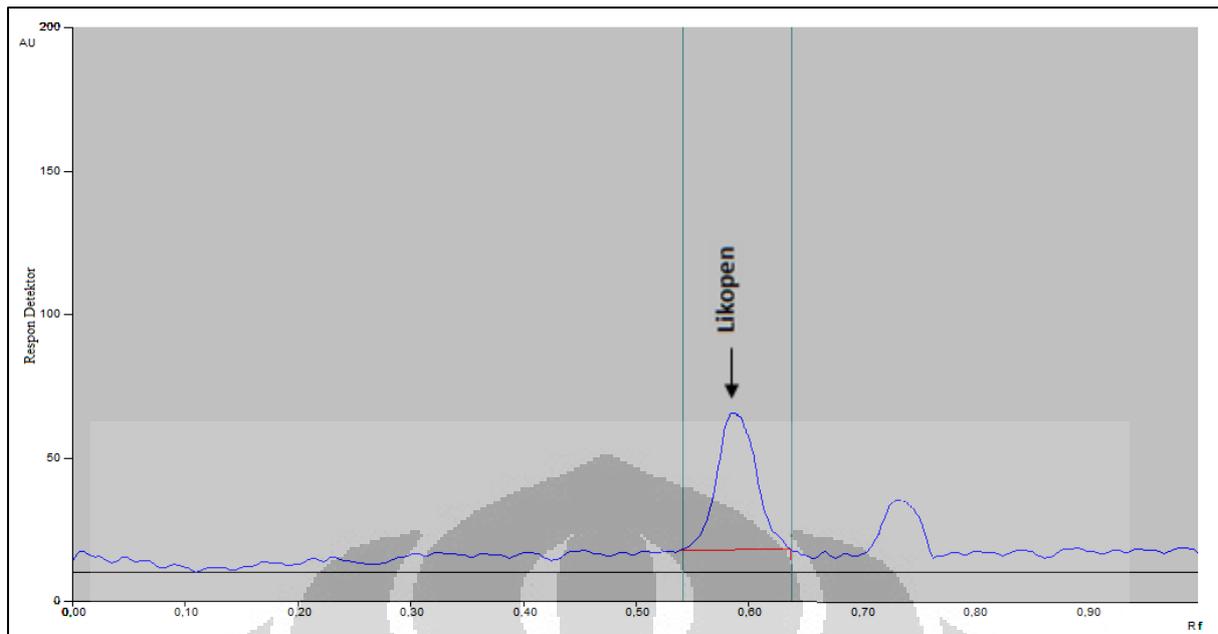
Gambar 4.3b. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 5%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



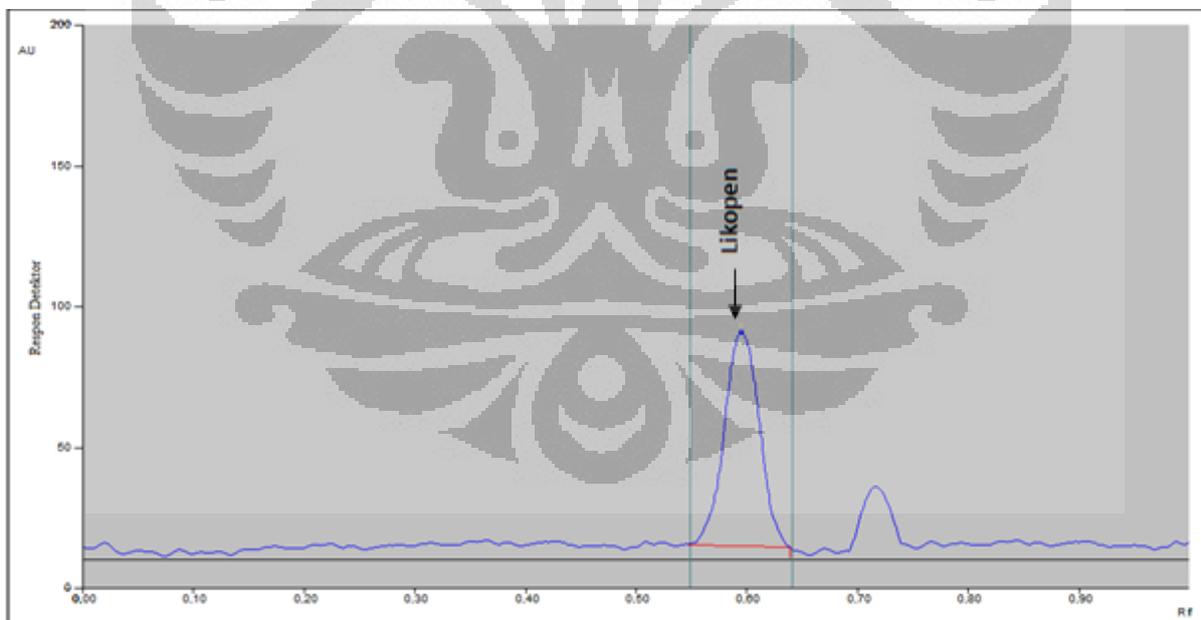
Gambar 4.3c. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 7,5%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



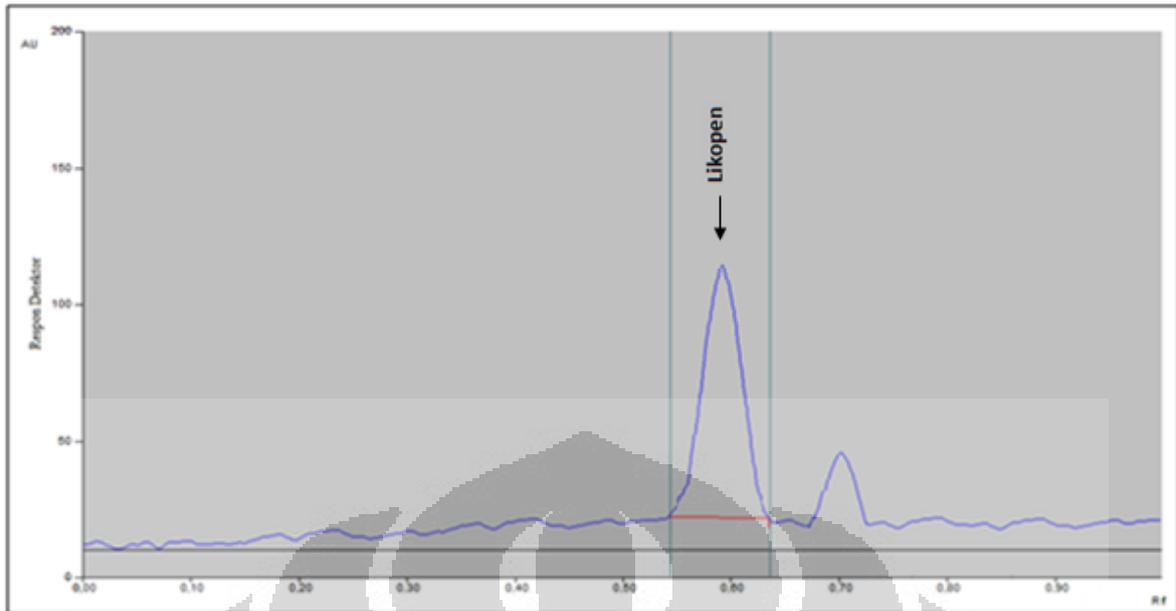
Gambar 4.3d. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, sukrosa 10%) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



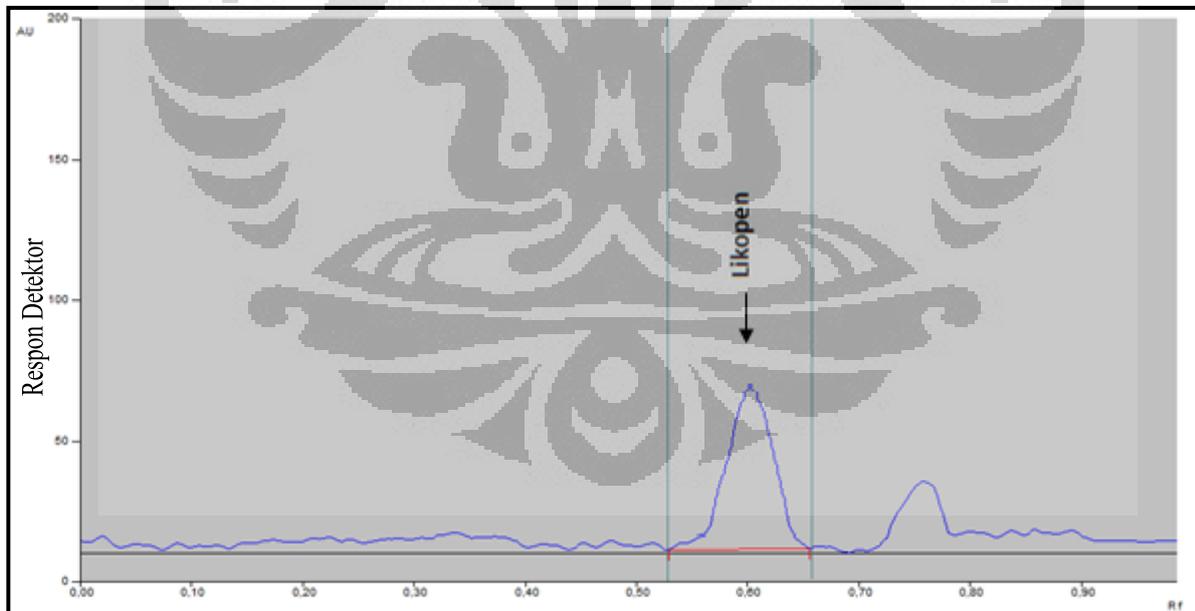
Gambar 4.4a. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium sulfat 0 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



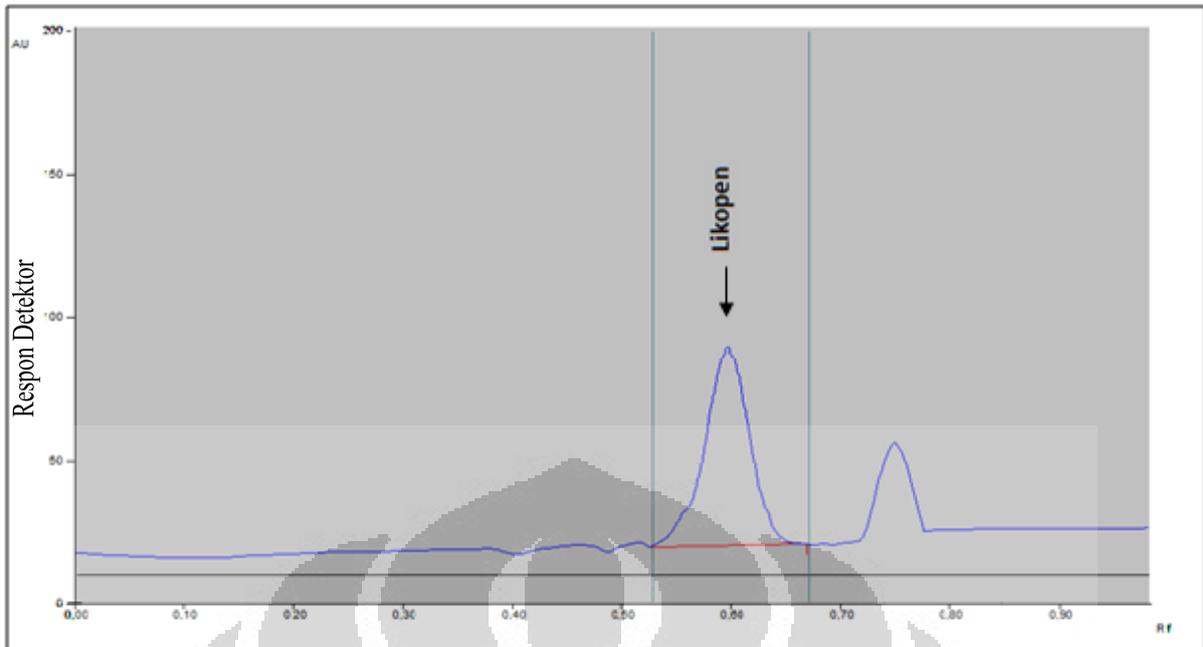
Gambar 4.4b. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium sulfat 1 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



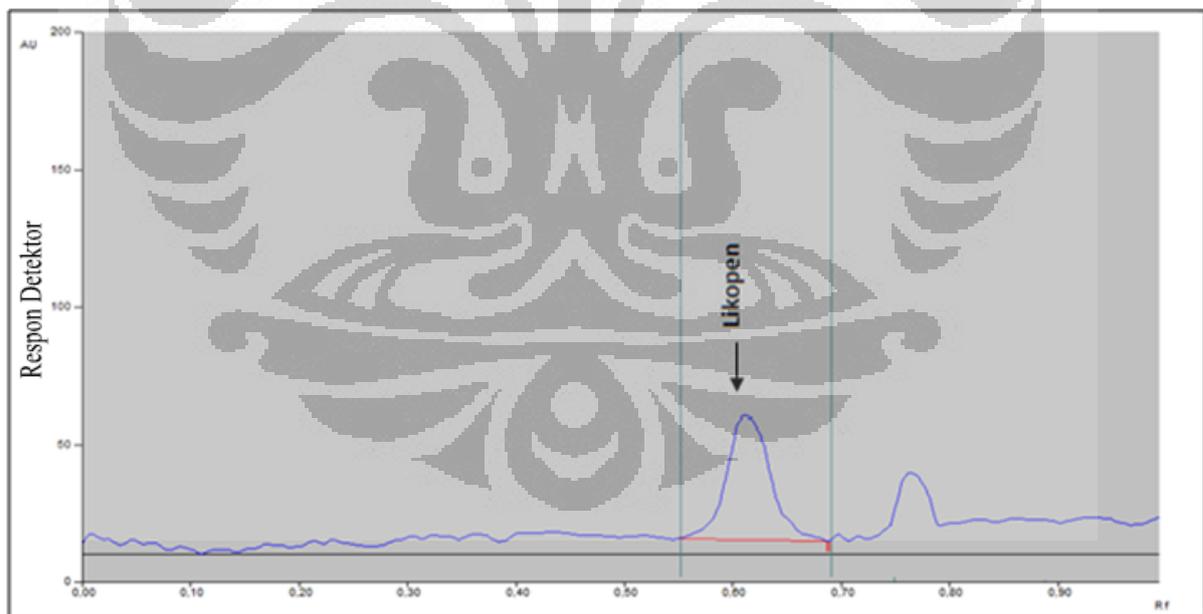
Gambar 4.4c. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium sulfat 2 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



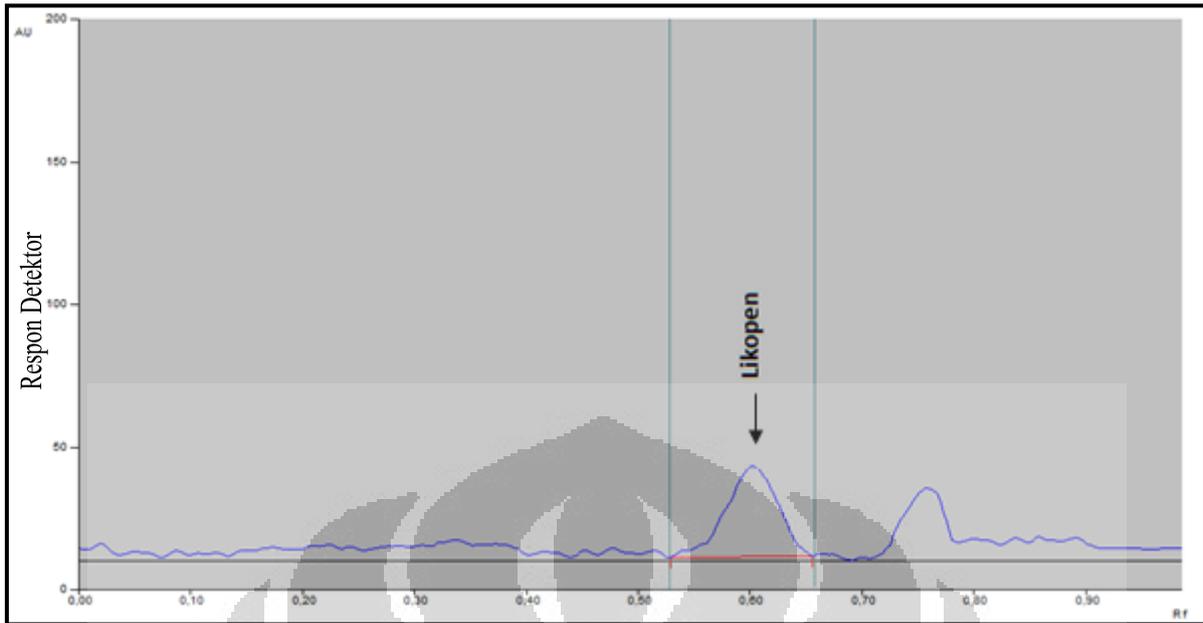
Gambar 4.4d. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium asetat 0 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



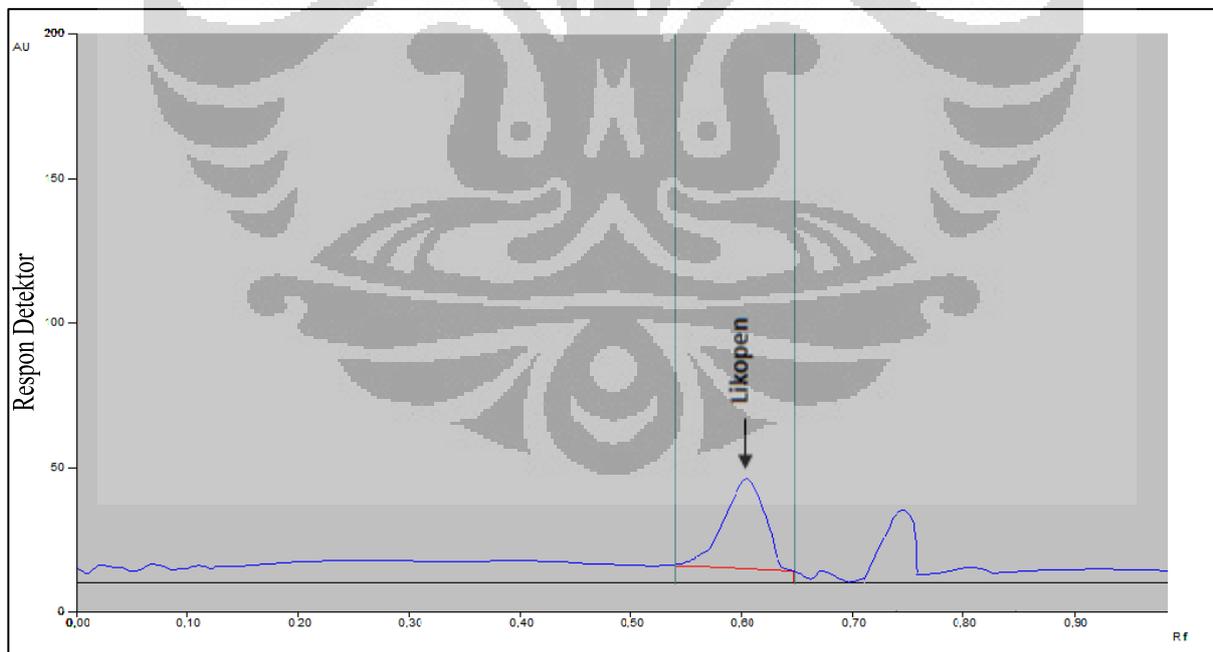
Gambar 4.4e. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium asetat 1 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



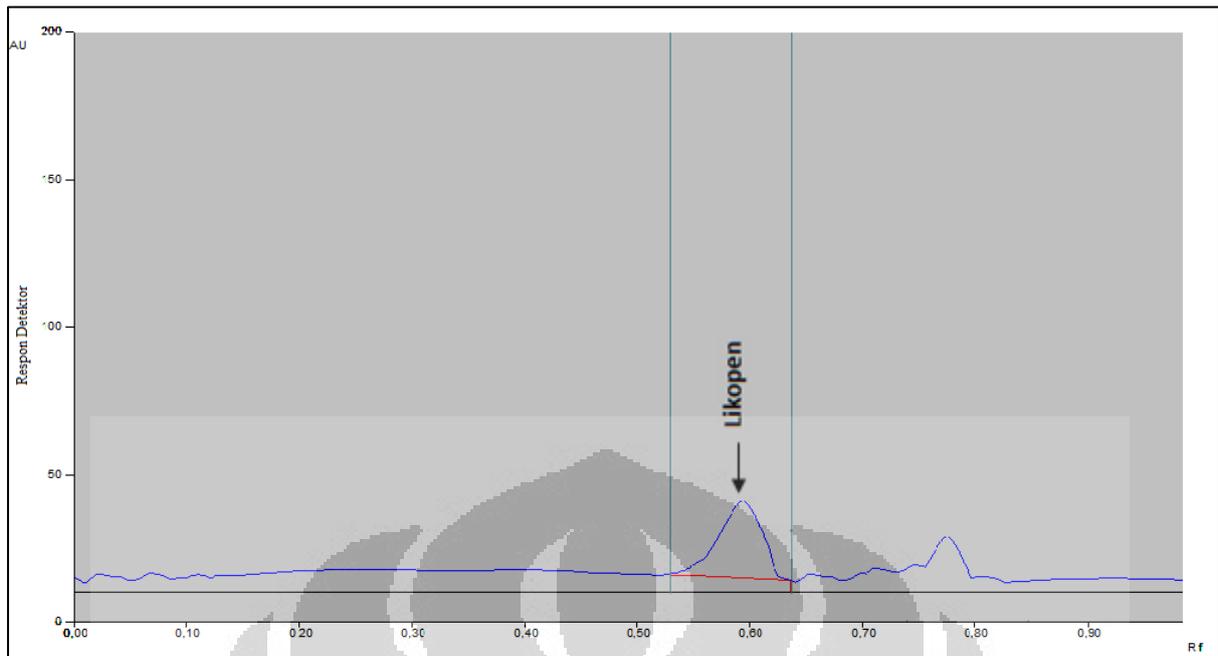
Gambar 4.4f. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, Amonium asetat 2 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



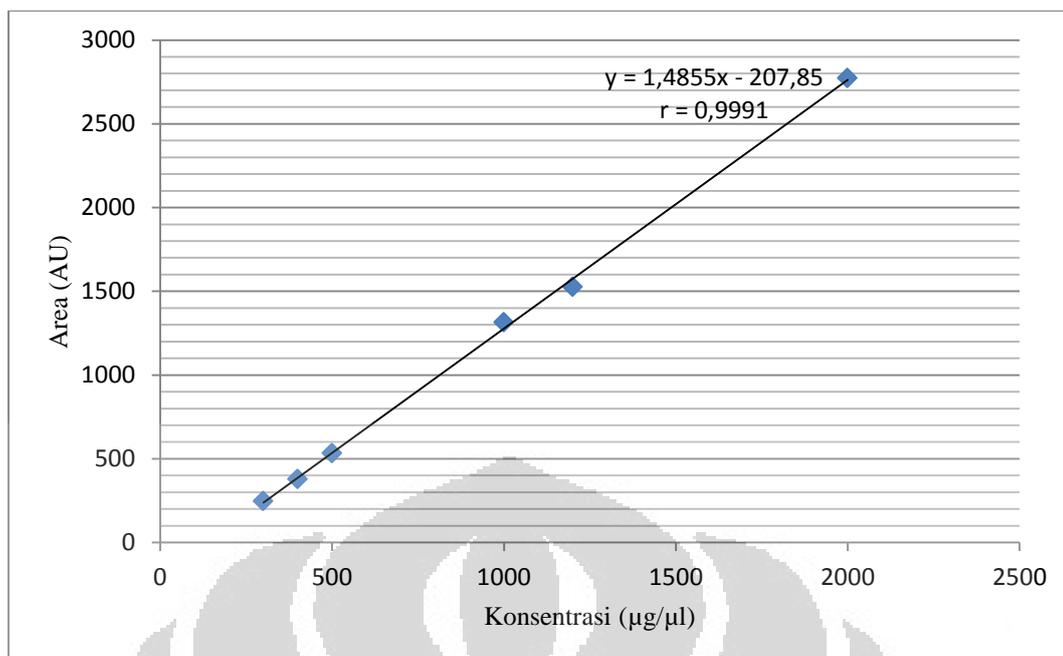
Gambar 4.4g. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintesis, Urea 0 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



Gambar 4.4h. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintesis, Urea 1 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



Gambar 4.4i. Kromatogram KLT sampel dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 (medium semi sintetis, Urea 2 g/l) dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v)



Keterangan :

Persamaan garis : $y = 1,4855x - 207,85$

Koefisien korelasi : $r = 0,9991$

Kondisi Analisis :

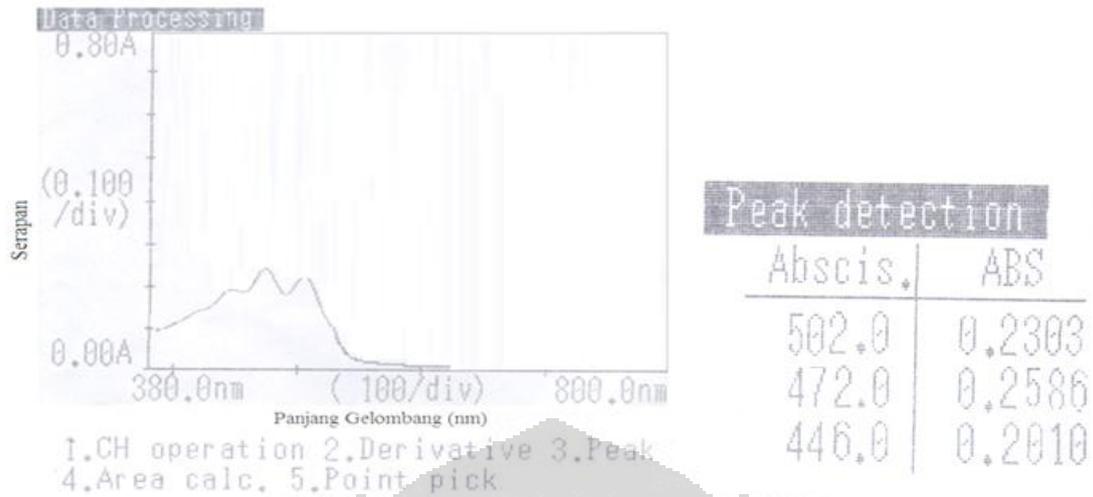
Alat TLC-Scanner Densitometri

volume Penotolan 2µl , fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v), fase diam silika gel, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473 nm.

Gambar 4.5. Kurva Kalibrasi Standar Likopen KLT Densitometri



Gambar 4.6. Serbuk Likopen Hasil Isolasi

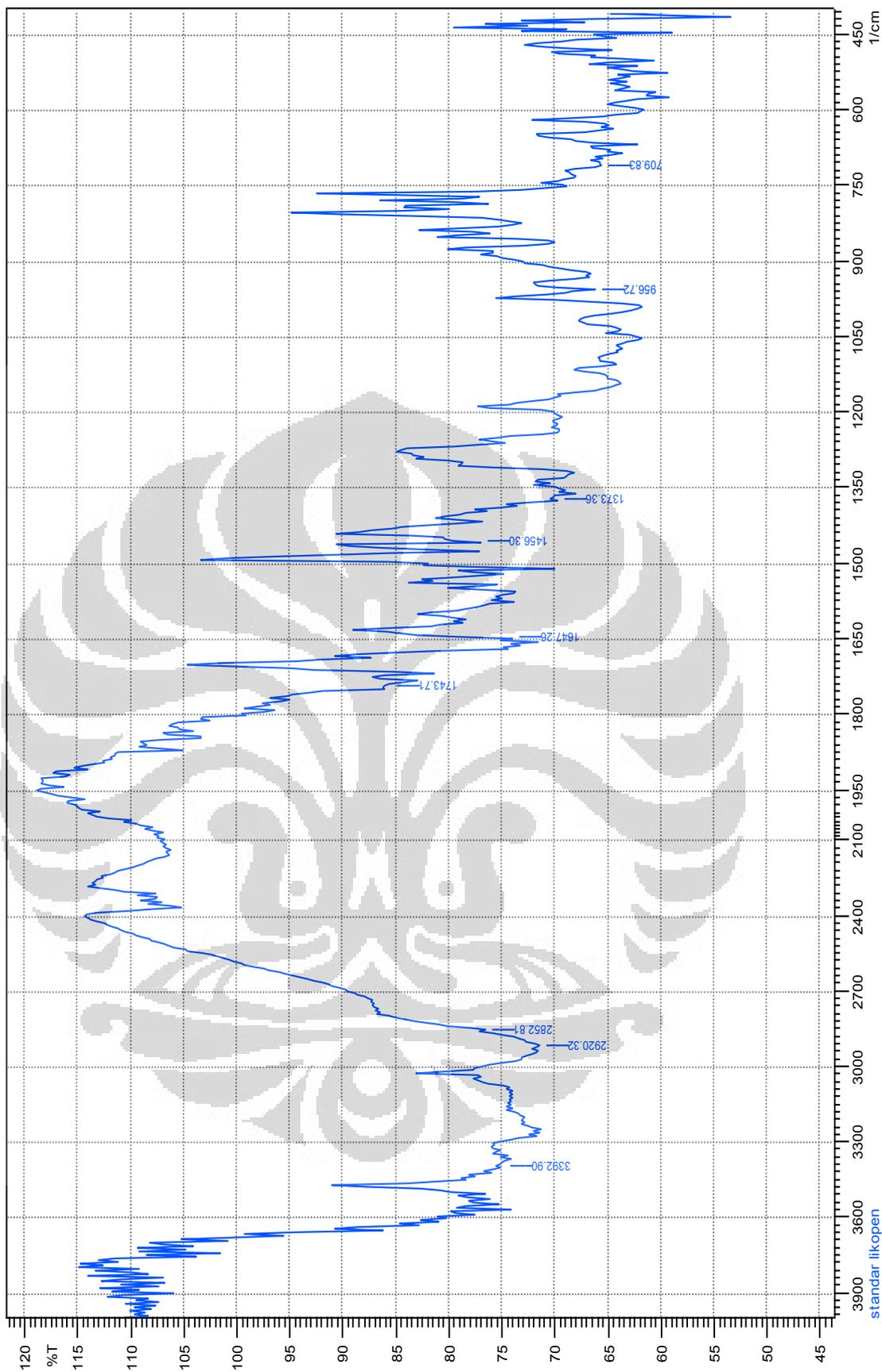


Keterangan :

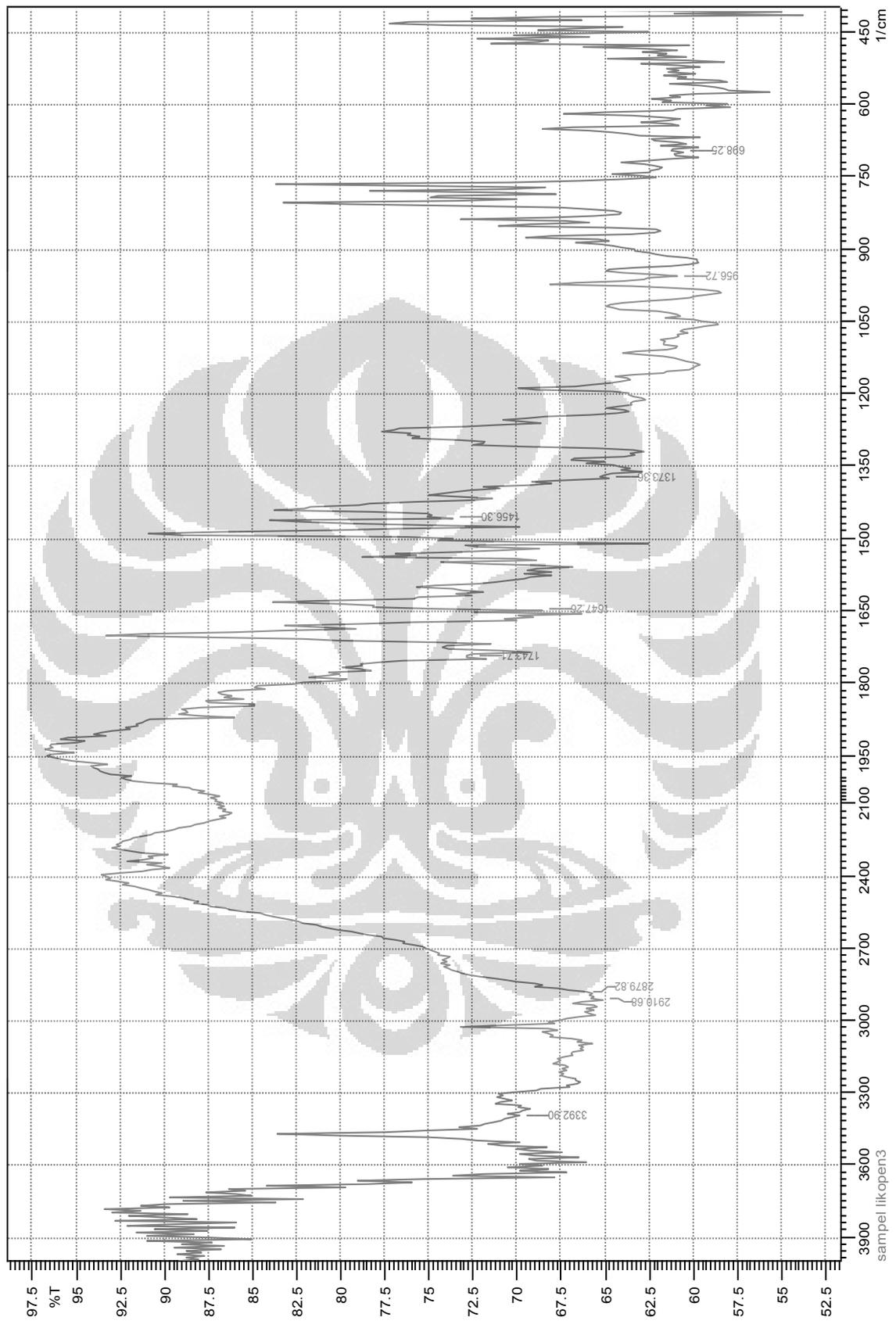
Panjang Gelombang : 473 nm

Serapan : 0,2586

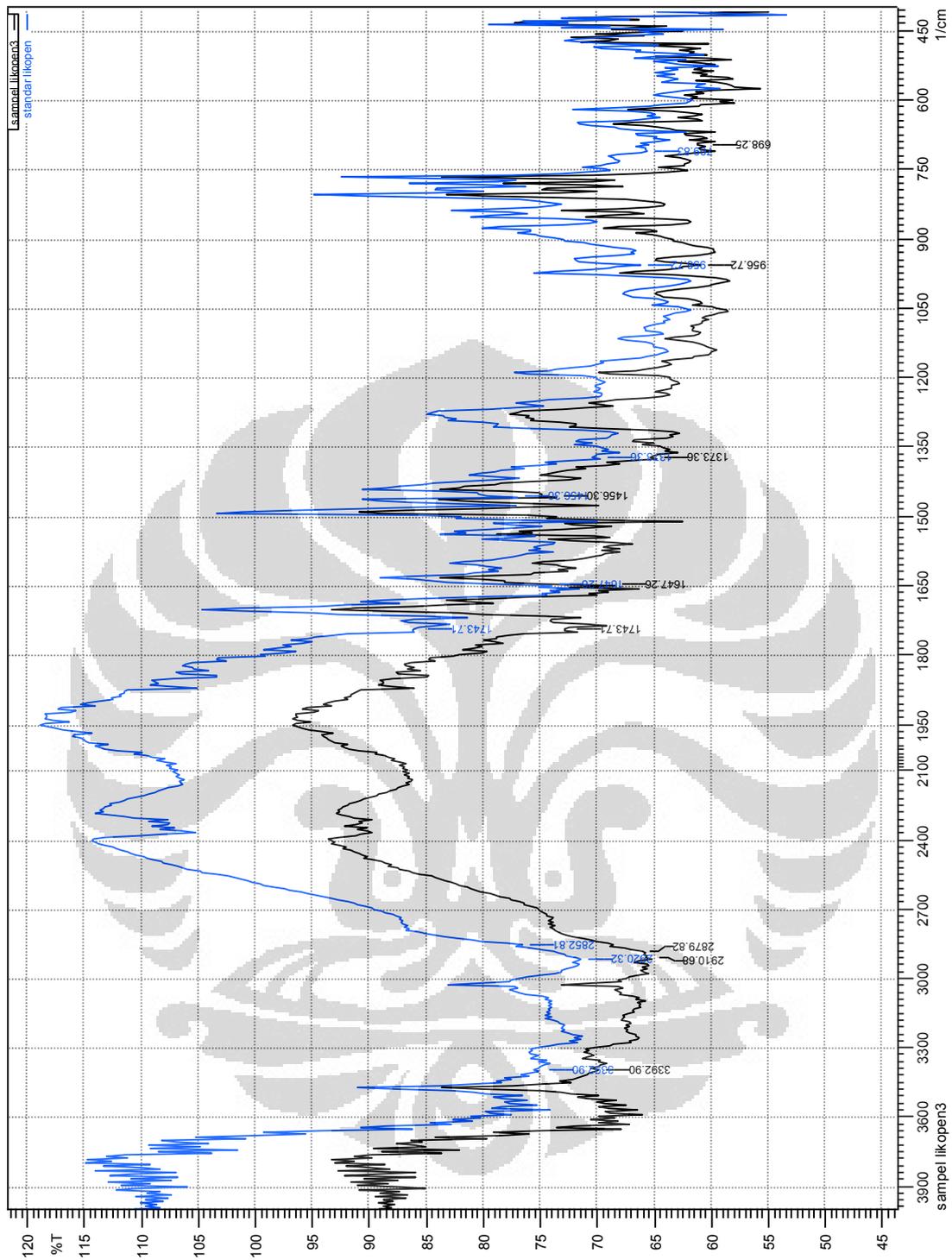
Gambar 4.7. Spektrum serapan sampel likopen 50 µg/ml dalam n-heksan



Gambar 4.8. Spektrum IR Standar Likopen



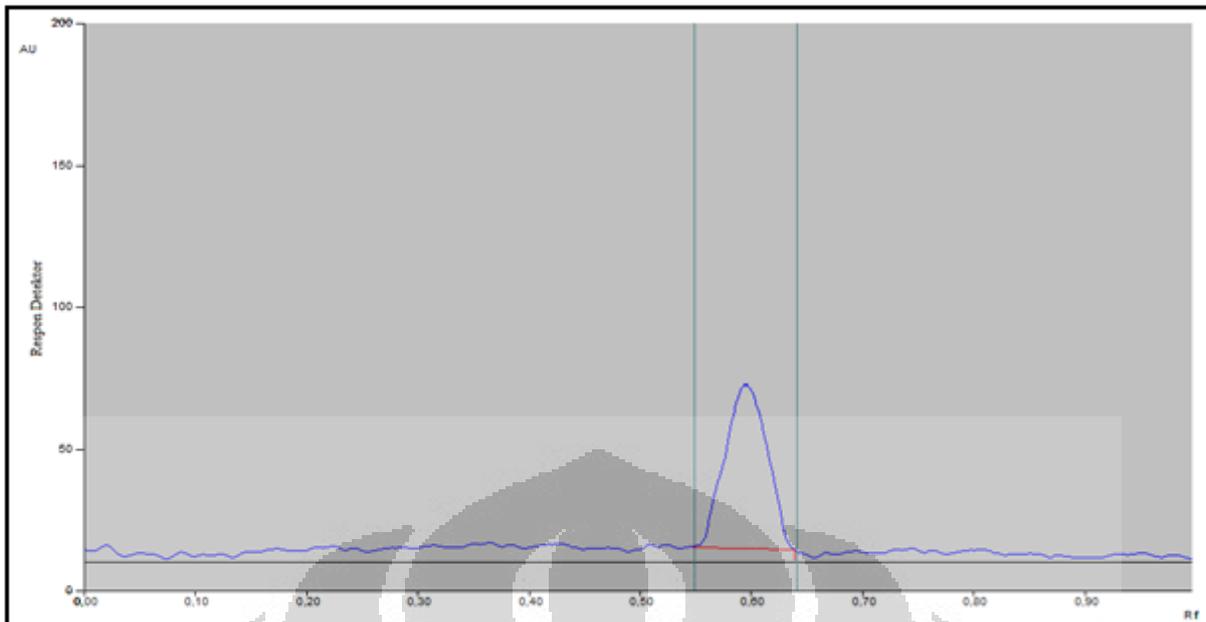
Gambar 4.9. Spektrum IR Hasil Isolasi Likopen



Keterangan :

- Standar Likopen
- Hasil Isolasi likopen

Gambar 4.10. Tumpang tindih (overlay) spektrum IR hasil isolasi likopen dan standar likopen



Gambar 4.11. Kromatogram KLT sampel likopen dari khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 dengan konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$ dalam n-heksan dengan eluen etil asetat-metanol (4:6 v/v) pada nilai Rf 0,59



Tabel 4.1.Hasil Perhitungan kadar standar likopen setelah diekstraksi

| Berat standar yang ditimbang (gram) | Berat Cawan Penguap kosong (gram) | Berat Cawan Penguap berisi Ekstrak (gram) | Kadar (%) |
|--|--|--|------------------|
| 100,2 | 49,5910 | 54,8579 | 5,26 |
| 100,5 | 49,5917 | 54,8979 | 5,27 |
| 100,3 | 49,5914 | 54.8815 | 5,27 |
| Rata-rata | | | 5,27 |

$$\% \text{ perolehan kembali} = 5,27\% / 5,30\% \times 100\% = 99,43\%$$

Tabel 4.2 Kurva Kalibrasi Standar Likopen KLT Densitometri

| No | Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$) | Area (AU) |
|----|-------------------------------------|-----------|
| 1 | 300 | 247,26 |
| 2 | 400 | 378,74 |
| 3 | 500 | 533,35 |
| 4 | 1000 | 1314,51 |
| 5 | 1200 | 1526,62 |
| 6 | 2000 | 2774,04 |

Keterangan :

Persamaan garis : $y = 1,4256x - 237,08$

Koefisien korelasi : $r = 0,9991$

Kondisi Analisis :

Alat TLC-*Scanner* Densitometri

volume Penotolan $2\mu\text{l}$, fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v), fase diam silika gel, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473 nm.

Tabel 4.3. Hasil perhitungan kadar sampel optimasi konsentrasi karbon

| Konsentrasi Sukrosa dalam Medium (%) | Bobot Sel Basah (gram) | Area (AU) | Kadar Likopen ($\mu\text{g/g}$) |
|---|-------------------------------|------------------|---|
| 2,5 | 1,3913 | 451,70 | 3191,20 |
| 5,0 | 1,6807 | 457,23 | 2663,85 |
| 7,5 | 1,9522 | 593,81 | 2764,35 |
| 10 | 2,0118 | 752,22 | 3212,51 |

Kondisi Analisis :

Alat TLC-Scanner Densitometri

volume Penotolan 2 μl , fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v), fase diam silika gel, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473 nm.

Keterangan :

Semua ekstrak diperoleh dari hasil ekstraksi sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 menggunakan n-heksan, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan n-heksan sampai tanda batas labu ukur.

Tabel 4.4. Hasil perhitungan kadar sampel optimasi sumber nitrogen

| Sumber Nitrogen | Bobot Sel Basah | Area | Kadar Likopen |
|----------------------|-----------------|---------|---------------------|
| | (gram) | (AU) | ($\mu\text{g/g}$) |
| Amonium sulfat 0 g/l | 2,2591 | 897,09 | 3292,53 |
| Amonium sulfat 1 g/l | 2,5498 | 1018,76 | 3238,37 |
| Amonium sulfat 2 g/l | 2,0112 | 1585,89 | 6003,87 |
| Amonium asetat 0 g/l | 2,2376 | 912,54 | 3370,65 |
| Amonium asetat 1 g/l | 2,6919 | 998,76 | 3017,41 |
| Amonium asetat 2 g/l | 1,7425 | 776,65 | 3803,38 |
| Urea 0 g/l | 1,5512 | 499,89 | 3071,37 |
| Urea 1 g/l | 0,9574 | 256,41 | 3264,33 |
| Urea 2 g/l | 0,9897 | 250,12 | 3115,01 |

Kondisi Analisis :

Alat TLC-Scanner Densitometri

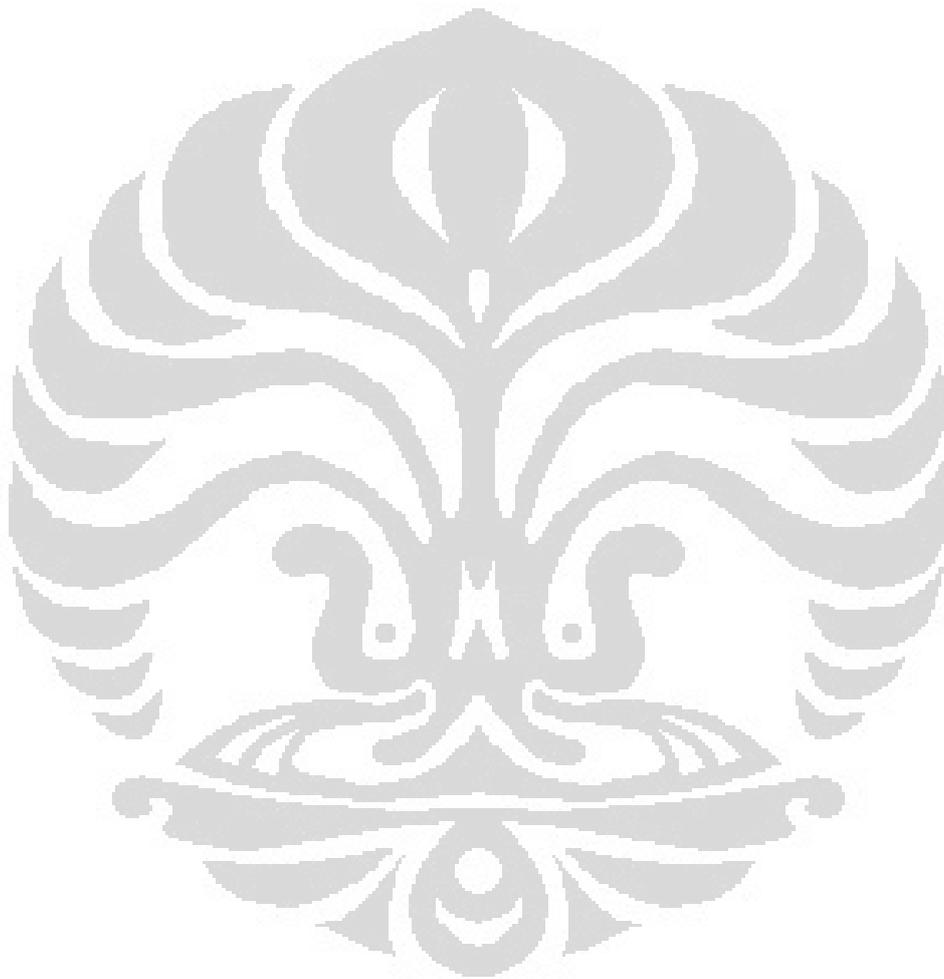
volume Penotolan 2 μl , fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v), fase diam silika gel, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473 nm.

Keterangan :

Semua ekstrak diperoleh dari hasil ekstraksi sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 menggunakan n-heksan, kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan n-heksan sampai tanda batas labu ukur.

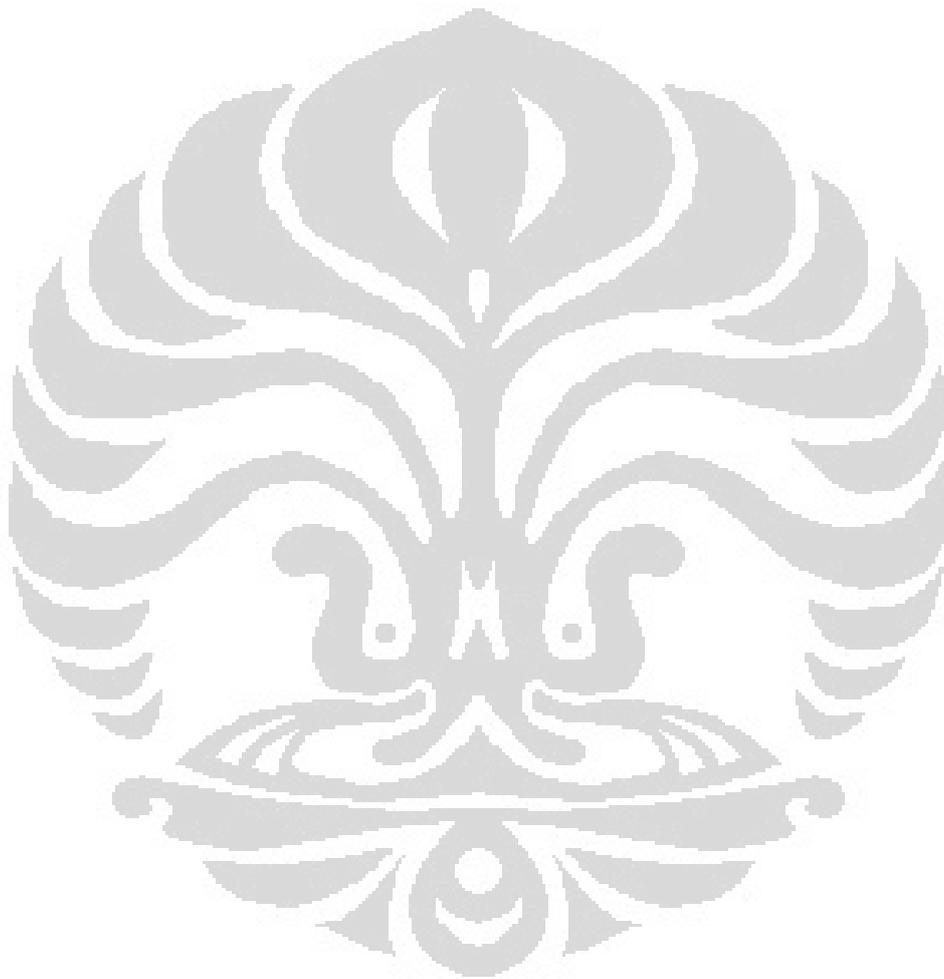
Tabel 4.5. Hasil ekstraksi sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dengan n-heksan

| Volume Fermentasi (liter) | Bobot Sel Basah (gram) | Oleoresin (mg) |
|--------------------------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| 2 | 80,5786 | 289,65 |



Tabel 4.6. Hasil Isolasi Likopen dari oleoresin sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa*

| Berat Oleoresin Yang Ditimbang (mg) | Berat Hasil Isolasi (mg) |
|--|---|
| 289,65 | 19,7 |



Tabel 4.7. Penetapan Kadar Hasil Isolasi Likopen dari sel khamir *Rhodotorula mucilaginosa* dengan KLT Densitometri

| Berat Hasil Isolasi Likopen yang ditimbang (gram) | Area (AU) | Kadar Likopen (%) | Kadar rata-rata (%) | SD | KV (%) |
|--|------------------|--------------------------|----------------------------|-----------|---------------|
| 0,0100 | 492,01 | 18,68 | 18,67 | 0,63 | 0,10 |
| | 491,12 | 18,65 | | | |

Kondisi Analisis :

Alat TLC-Scanner Densitometri

volume Penotolan 2µl , fase gerak etil asetat-metanol (4:6 v/v), fase diam silika gel, dan detektor UV-Vis pada panjang gelombang 473 nm.



LAMPIRAN

Lampiran 1

Cara memperoleh persamaan garis linear

Persamaan garis $y = a + bx$

a dan b adalah bilangan normal, dihitung dengan rumus :

$$a = \frac{(\sum y_i)(\sum x_i)^2 - (\sum x_i)(\sum y_i)}{n(\sum x_i^2) - (\sum y_i)^2}$$

$$b = \frac{n\sum x_i y_i - (\sum x_i)(\sum y_i)}{n(\sum x_i^2) - (\sum x_i)^2}$$

Linearitas ditentukan berdasarkan nilai koefisien korelasi (r) dengan rumus:

$$r = \frac{n\sum xy - (\sum x)(\sum y)}{\left[\left(n(\sum x^2) - (\sum x)^2 \right) \left(n(\sum y^2) - (\sum y)^2 \right) \right]^{\frac{1}{2}}} \quad (4.1)$$

Lampiran 2
Cara perhitungan koefisien variasi

Rata-rata :

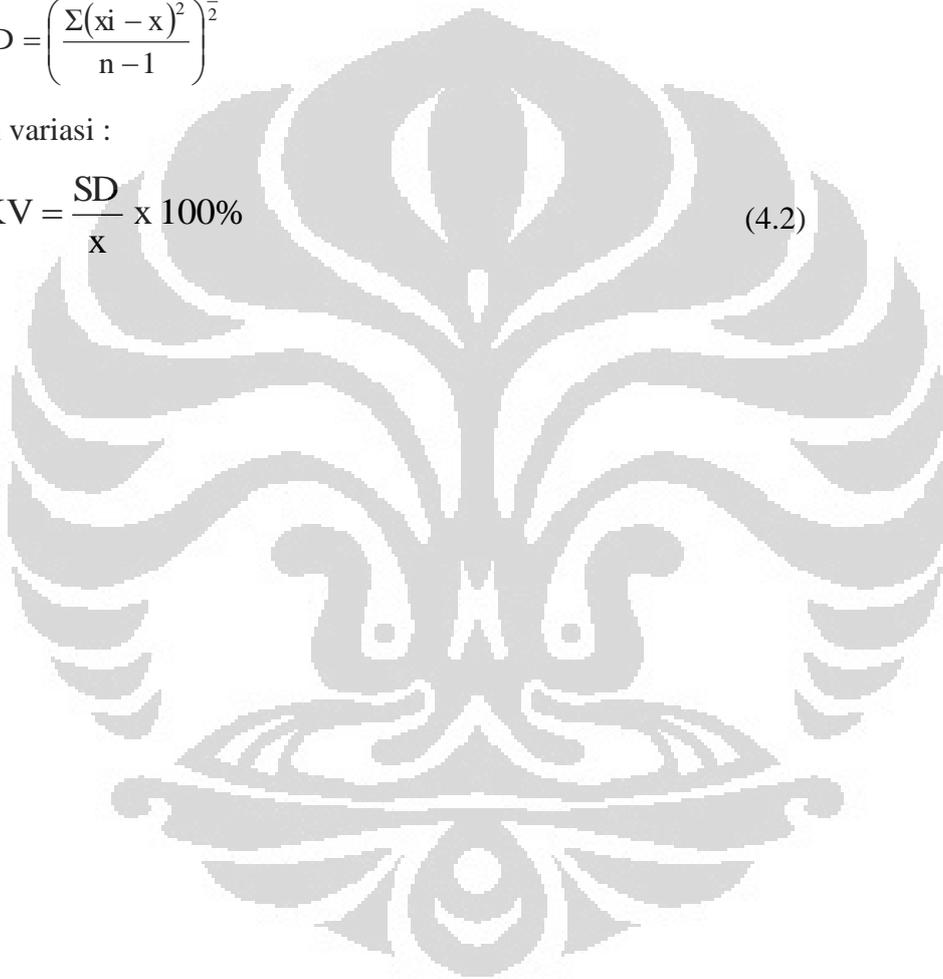
$$\bar{x} = \frac{\sum X}{n}$$

Simpangan deviasi :

$$SD = \left(\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \right)^{\frac{1}{2}}$$

Koefisien variasi :

$$KV = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\% \quad (4.2)$$



Lampiran 3
Cara Perhitungan Kadar dalam Sampel

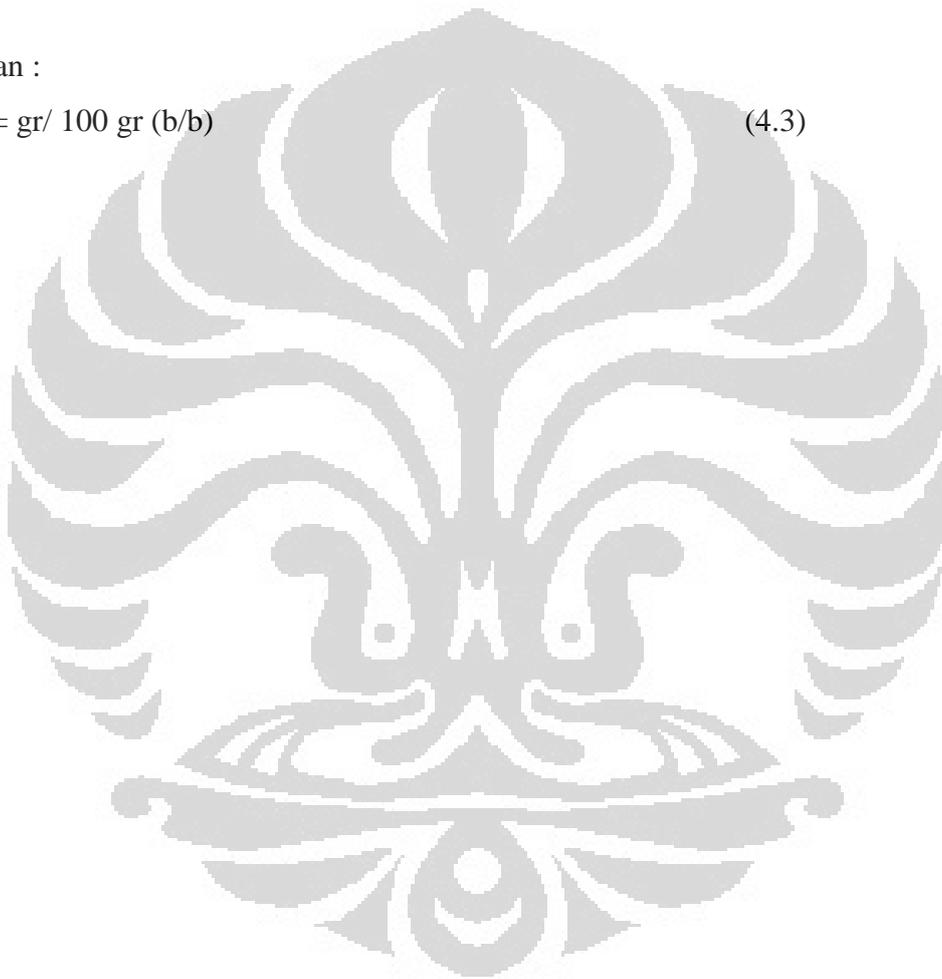
Kadar sampel hasil isolasi likopen :

% kadar

$$= \frac{\text{Konsentrasi}(\mu\text{g/ml}) \text{ dari kurva kalibrasi} \times \text{Faktor pengenceran} \times \text{Volume pengenceran terakhir}}{\text{Berat Sampel (gram)}}$$

Keterangan :

$$\% \text{ kadar} = \text{gr} / 100 \text{ gr (b/b)} \quad (4.3)$$



Lampiran 4
Sertifikat analisis Likopen

Lampiran E
FPK 7-01-03-31/05-R00

| | | |
|--|--|--------------|
|  PT. SOHO Industri Farmasi | QA Division Sertifikat Analisa Baku Pembeding Kerja | Hal 1 dari 1 |
|--|--|--------------|

| | | | |
|------------------------------------|---------------|--|---------------|
| Nama Baku Pembeding Kerja | Lycopene | No. Sertifikat Analisa | SWS/0055/10 |
| No Batch Baku Pembeding Kerja | 1569WS110 | Uji Ulang | 06 Juli 2011 |
| No Batch Asal Baku Pembeding Kerja | UT09030008 | Expired Date | 27 Maret 2012 |
| Manufacturer | D S M | Kondisi Penyimpanan | 2° - 8° |
| Manufacturing Date | 28 Maret 2009 | Tanggal Pembuatan Baku Pembeding Kerja | 06 Juli 2010 |

| No | Uji | Spesifikasi | Hasil |
|-----|----------------------------|---|-------------------------|
| 01 | Deskripsi | Serbuk granul halus warna kemerah-merahan | Serbuk granul kemerahan |
| 02 | Identifikasi : | | |
| 2.1 | Spektrum UV | Harus sesuai | Sesuai |
| 03 | Loss on Drying | Tidak lebih dari 8.0 % | 7.0 % |
| 04 | Assay (Spektrofotometri) | Tidak kurang dari 5.0 % | 5.3 % |

Catatan : -

Memenuhi Persyaratan / Tidak Memenuhi Persyaratan

| | Disusun Oleh | Diperiksa Oleh | Disetujui Oleh |
|--------------|---|---|---|
| Tanda Tangan |  |  |  |
| Tanggal | 07 Juli 10 | 07 Jul 10 | 08 Juli 10 |

Lampiran 5

Surat Determinasi *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169

UNIVERSITY OF INDONESIA CULTURE COLLECTION
LABORATORIUM MIKROBIOLOGI-DEPARTEMEN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS INDONESIA

Gedung E Lt. IV Kampus UI – Depok, Depok 16424. Tel/Fax: 62-21-78884762

No. : 126 /UICC/G/2012

Depok, 21 Maret 2012

Lamp : --

Hal : Surat keterangan

SURAT KETERANGAN

Rhodotorula mucilaginosa UICC Y-169 merupakan khamir yang dimiliki University of Indonesia Culture Collection (UICC). *Rhodotorula mucilaginosa* UICC Y-169 dianalisis menggunakan data *sequence* berdasarkan *D1/D2 region of Large Subunit ribosomal DNA* (LSU rDNA). Khamir tersebut hidup (*viable*) dan murni.

Depok, 21 Maret 2012
University of Indonesia Culture Collection

Ariyanti Oetari, Ph.D.
Curator UICC

