

**PENAMBAHAN MOLASE SEBAGAI SUMBER KARBON  
UNTUK PEMBENTUKAN EKSO- DAN ENDOPOLISAKARIDA  
MIKROALGA *Porphyridium cruentum***

**Ni Wayan Sri Agustini & Kusmiati**  
Pusat Penelitian Bioteknologi-LIPI  
Jln. Raya Bogor Km 46, Cibinong, Bogor

**ABSTRACT**

*Porphyridium cruentum* was colored sea micro-algae red that was known could produce the polysaccharide take the form of exo- and endo polysaccharide. The function of the polysaccharide to the cell as the patron of the cell during the extreme condition, whereas in the health field and the pharmacy, including functioning as thickener and emulsifier, also the additive in the supply of the tablet. The growth of micro-algae in the synthetic medium inorganic really was affected factor the environment and nutrition, one of them that are the source of carbon. In this research used the source of organic carbon that came from molasses. The concentration molasses that was used in this research was the 0 mg/l, 150 mg/l, 300 mg/l, 450 mg/l, and 600 mg/l. Observation was carried out by measuring the density of the cell, the extraction, the analysis of the level of glucose and protein with used spectrophotometer UV-Vis as well as the analysis of the monosaccharide component with HPLC. The result of the research showed that the production exo- and endo polysaccharide highest was received in culture with the concentration molasses 600 mg/l on the 17th day. Was based on the HPLC analysis, to the sample exo polysaccharide was received the level of glucose 0.598 %, xilosa 0.035 %, and galactosa 0.042 %, whereas to the sample endo polysaccharide was received the level of glucose 0.353 %, xylose 0.206 %, and galactose 0.096 %. In the glucose research was the highest monosaccharide component that was produced by *P. cruentum*.

**Key word:** *Porphyridium cruentum*, molasses, exo-endo polysaccharide

**PENDAHULUAN**

Mikroalga merupakan tumbuhan berklorofil yang terdiri dari satu atau banyak sel dan berbentuk koloni. Sel mikroalga mengandung bahan-bahan organik seperti polisakarida, hormon, vitamin, mineral dan juga senyawa bioaktif lainnya. Apabila dibandingkan dengan mikroorganisme lain, pemanfaatan mikroalga di Indonesia sebagai komoditi perdagangan atau bahan baku industri belum banyak dilirik orang, sedangkan telah

diketahui komponen kimiawi yang terdapat dalam mikroalga sangat bermanfaat bagi bahan baku industri makanan, kosmetik, farmasi dan lain-lain (Vonshak, 1988).

*Porphyridium cruentum* merupakan salah satu spesies dari mikroalga laut merah yang memiliki potensi ekonomi untuk dikembangkan. Mikroalga ini mampu memproduksi senyawa kimia hasil metabolisme, yang dikenal sebagai metabolit sekunder. Produk dominan yang dihasilkan mikroalga ini berupa polisakarida, pigmen fikoeritrin, dan asam arakidonat (Voshak, 1988).

Kandungan polisakarida *P. cruentum* lebih tinggi daripada kandungan nutrisi lainnya, yaitu sebesar 35 % dari bobot kering. Polisakarida yang dihasilkan memiliki nilai yang menguntungkan karena memiliki aktifitas biologi yang bervariasi, diantaranya dibidang farmasi dan industri makanan digunakan sebagai bahan pengental, penstabil, pengemulsi, dan ditemukan juga sebagai antioksidan yang baik di industri farmasi Percival, E and Foyle, R.J.A., 1979).

Polisakarida merupakan polimer dari monosakarida yang tersusun dalam rantai bercabang atau lurus dan makromolekul alami yang terdapat dalam hampir semua organisme, berfungsi sebagai sumber energi juga zat antara metabolisme (Smith G.M., 1986). Jenis polisakarida yang dihasilkan *P. cruentum* dapat berupa ekso- dan endopolisakarida. Eksopolisakarida adalah polisakarida yang dihasilkan sel mikroalga berupa cairan yang dieksresikan keluar sel terus menerus dan terlarut ke dalam medium kultur, sedangkan endopolisakarida merupakan polisakarida yang dihasilkan dalam sel mikroalga dan digunakan sebagai sumber energi untuk mempertahankan kelangsungan hidup.

Polisakarida dari *P. cruentum* adalah bahan ekstraseluler yang larut dalam air. Komposisi polisakarida mikroalga ini, terdiri dari xilosa (38%), glukosa (24%), dan galaktosa (22 %). Selain itu, polisakarida dari *P. cruentum* mengandung 7-10 % ester sulfat ( polisakarida sulfat ) dan protein pengikat 5-7 % (Bold, H.C. and Wynne, J.M., 1985; Geresh et al., 2002; V. Gluaguen et. all., 2004). Polisakarida sulfat terdapat dalam komponen dinding sel *P. cruentum* yang merupakan ciri khas yang membedakan dengan jenis mikroalga lain. Telah dilaporkan bahwa

polisakarida sulfat dalam *P. cruentum* memiliki aktifitas antivirus melawan virus *Herpes simplex* ( HSV 1,2 ) (Huhaihel et. all. 2002).

Produksi ekso- dan endopolisakarida *P. cruentum* selain dipengaruhi oleh faktor lingkungan juga dipengaruhi komposisi nutrisi yang ditambahkan pada media kultur, salah satu diantaranya yaitu ketersediaan unsur karbon. Karbon sebagai unsur makronutrisi dalam pertumbuhan dan perkembangan mikroalga sangat dibutuhkan untuk proses fotosintesis.

Pada penelitian ini, sumber karbon yang digunakan berasal dari molase. Molase merupakan cairan kental berwarna coklat kehitaman sisa industri gula yang tidak dapat membentuk kristal pada proses kristalisasi (Paturau, J.M., 1982). Sejumlah glukosa dan sukrosa yang terkandung dalam molase memungkinkan untuk dimanfaatkan sebagai sumber karbon organik dalam medium kultur. Karbon organik tersebut dapat membantu mikroalga melakukan fotosintesis pada saat malam hari. Ketersediaan karbon organik yang cukup dan cahaya lampu yang dikondisikan dilaboratorium maka, *P. cruentum* mampu menghasilkan ekso- maupun endopolisakarida sebagai hasil dari fotosintesis. Disamping unsur karbon organik, molase juga mengandung unsur nitrogen yang dapat mempengaruhi metabolisme mikroalga sebagai komponen utama dari protein sel yang merupakan bahan dasar dari kehidupan (Baker, B.P., 1980 dan Anonim, 2002).

Berdasarkan hal tersebut diatas, maka penelitian ini dilakukan untuk mengetahui sejauh mana penambahan molase sebagai sumber karbon organik dapat mempengaruhi pembentukan ekso- dan endopolisakarida dari mikroalga *P. cruentum*, sehingga pada akhirnya diharapkan mikroalga ini dapat dijadikan sebagai sumber polisakarida pengganti yang berasal dari tumbuhan maupun mikroorganisme lainnya.

## METODE

**Bahan uji yang digunakan adalah:** Mikroalga merah *Porphyridium cruentum* yang merupakan kultur koleksi laboratorium aquakultur Pusat Penelitian Bioteknologi LIPI Cibinong – Bogor.

Molase sebagai sumber karbon yang diperoleh dari PT Jawa Manis Rafinasi Cilegon - Banten.

**Kultivasi *Porphyridium cruentum*.** Kultivasi dilakukan pada botol ukuran 2 liter dengan menggunakan medium Becker (1994) dengan 5 variasi konsentrasi molase yaitu 0 ; 150 ; 300 ; 450 ; 600 mg/l. Kultur diberi aerasi secara terus menerus dengan intensitas cahaya 2500 lux dan pH awal 7.6.

**Ekstraksi Ekso dan Endopolisakarida.** Ekstraksi dilakukan terhadap supernatan dan endapan. Bagian supernatan untuk melakukan ekstraksi eksopolisakarida, sedangkan bagian endapan untuk melakukan ekstraksi endopolisakarida. Sampel diambil sebanyak 5 ml pada setiap fase pertumbuhan yang berbeda, setelah itu disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit.

**Ekstraksi Eksopolisakarida.** Supernatan sebanyak 2,5 ml ditambahkan etanol 5 ml, sentrifugasi 3500 rpm selama 15 menit. Endapan eksopolisakarida dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C, selama 24 jam. Hasil ekstraksi dimasukkan ke dalam desikator dan dilakukan penimbangan bobot kering eksopolisakarida hingga diperoleh bobot konstan.

**Ekstraksi Endopolisakarida.** Endapan sel diekstraksi untuk mendapatkan endopolisakarida dengan beberapa tahap, yaitu : pertama, endapan ditambahkan kalium klorida 1 % sebanyak 1,5 ml, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3500 rpm selama 15 menit. Endapan yang terpisah dilakukan pemecahan sel dengan alat sonikator selama 10 menit. Selanjutnya dibekukan dalam freezer selama 24 jam dan dibiarkan mencair di ruang gelap. Kemudian sentrifugasi kembali 3500 rpm, 15 menit. Endapan yang diperoleh ditambah dengan H<sub>2</sub>O 1,5 ml dan disentrifugasi kembali, supernatan dibuang. Endapan yang diperoleh ditambah 1,5 ml NaOH 0,75 N kemudian sentrifugasi kembali, supernatan dibuang. Endapan yang diperoleh ditambahkan dengan asam asetat 0,5 N 1,5 ml, sentrifugasi kembali, supernatan dibuang, endapan ditambah lagi dengan NaOH 0,75 N, sentrifugasi kembali. Endapan terakhir ditambah dengan etanol 1,5 ml, sentrifugasi kembali. Endapan kemudian dikeringkan di oven pada suhu 50°C, selama 24 jam. Hasil

ekstraksi dimasukkan kedalam desikator hingga diperoleh bobot konstan. Setelah itu dilakukan penimbangan bobot kering endopolisakarida yang didapat.

**Analisis Glukosa.** Hasil ekstraksi ekso- dan endopolisakarida dalam larutan NaOH 0,5 N dipipet sebanyak 1 ml. Kemudian tambahkan 0.25ml fenol 5 % dan 1 ml asam sulfat pekat. Gojog dan diamkan selama 30 menit sebelum diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  480 nm. Setelah absorbansinya didapat diplotkan pada standar glukosa yang telah dibuat. Perhitungan kadar glukosa pada ekso- dan endopolisakarida

$$\text{Kadar Glukosa (\%)} : \frac{C \times V \times F_p}{B} \times 100 \%$$

Ket : C = Konsentrasi hasil pengukuran sampel ( mg/l ), B = Bobot zat uji ( mg ),  $F_p$  = Faktor pengenceran, V = Volume ( l ).

**Analisis Kadar Protein.** Hasil ekstraksi ekso- dan endopolisakarida dipipet sebanyak 1 ml. Kemudian tambahkan larutan biuret 4 ml, gojog hingga homogen. Diamkan selama 20 menit sebelum diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada  $\lambda$  550 nm. Setelah absorbansinya didapat diplotkan pada standar BSA (Bovine Serum Albumin) yang telah dibuat. Perhitungan kadar protein pada ekso- dan endopolisakarida.

$$\text{Kadar protein (\%)} : \frac{C \times V \times F_p}{B} \times 100 \%$$

Ket : C = Konsentrasi hasil pengukuran sampel ( mg/l ), B = Bobot zat uji ( mg ),  $F_p$  = Faktor pengenceran, V = Volume ( l )

**Hidrolisis Ekso- dan Endopolisakarida (Hisamatsu, 1996).** Ekso- dan endopolisakarida dihidrolisis dengan modifikasi metode Hisamatsu-AOAC menggunakan KCKT. Sebanyak 0,5 ml larutan ekso- dan endopolisakarida dalam tabung mikro ditambahkan 0,5 ml asam sulfat 4 N, tutup dan kocok homogen. Kemudian dipanaskan 100 °C selama 16 jam.

**Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).** Hasil hidrolisis ekso- dan endopolisakarida dianalisis dengan menggunakan KCKT untuk

mengetahui jumlah komposisi glukosa, xilosa, dan galaktosa yang dihasilkan, dengan kondisi sebagai berikut :

1. Kolom : Bondapak-Karbohidrat ( 300 mm×3mm)
2. Fase gerak : Air-asetonitril ( 40:60)
3. Waktu Alir : 1 ml/menit
4. Detektor : RID
5. Volume injeksi : 50 µl
6. Suhu : 23-25°C

Setelah itu dilakukan perhitungan kadar ekso- maupun endopolisakarida dengan menggunakan rumus sebagai berikut :

$C_s = \frac{A_s}{A_{st}} \times C_{st}$	$C_s$ = Konsentrasi sampel (%) $C_{st}$ = Konsentrasi standar (%) $A_s$ = Area sampel $A_{st}$ = Area standar
--	--

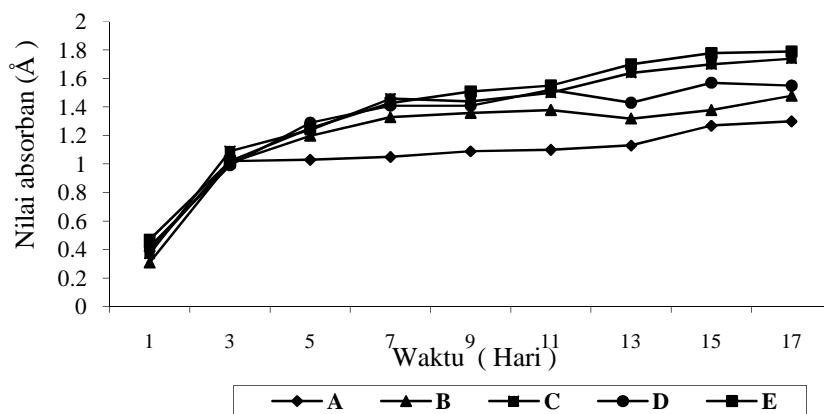
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengamatan Pola Pertumbuhan

Pengamatan pola pertumbuhan untuk mengetahui fase pertumbuhan *P. cruentum* dilakukan setiap dua hari sekali. Pengambilan sampel dilakukan hingga kultur mencapai fase stasioner, hal ini dilakukan karena polisakarida merupakan metabolit sekunder dan menurut Arad 1986, produksi polisakarida akan meningkat dan viskositas polisakarida terlarut yang diekskresikan ke dalam medium pada saat fase stasioner lebih besar daripada saat fase logaritmik.

Berdasarkan hasil pengamatan yang diperoleh, kepadatan sel (OD) dengan spektrofotometer UV-Visible pada panjang gelombang 680 nm, menunjukkan bahwa kultur *P. cruentum* yang ditumbuhkan pada medium dengan penambahan konsentrasi molase yang berbeda-beda tidak menghambat pertumbuhan. Molase dalam medium kultur berfungsi sebagai sumber karbon organik. Menurut Becker 1994, sumber karbon organik dapat berperan pada proses fotosintesis di malam hari, dengan bantuan sinar cahaya dari lampu dan tersedianya karbon organik yang cukup, proses fotosintesis tetap dapat berlangsung. Pertumbuhan kultur *P. cruentum* pada penambahan konsentrasi molase 600 mg/l lebih tinggi

dibandingkan pada konsentrasi molase yang lebih rendah, karena pada kultur tersebut memperlihatkan kepekatan warna kultur dan kekentalan yang cukup tinggi jika dibandingkan dengan kontrol, sehingga kepadatan sel (OD) yang dihasilkan mencapai nilai 1,790. Fase stasioner untuk setiap kultur tercapai pada hari ke-17. Pada fase lag (adaptasi) pola pertumbuhan tidak terlihat, karena pada saat stok kultur di inokulasikan ke dalam medium telah mencapai fase logaritmik. Hasil pengukuran kepadatan sel dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Pengukuran Kepadatan Sel (Optical Density) *P. cruentum*

Ket.: A : Kontrol ( medium tanpa molase ), B : Medium + molase 150 mg/l C : Medium + molase 300 mg/l, D : Medium + molase 450 mg/l, E : Medium + molase 600 mg/l

#### Ekstraksi Ekso- dan Endopolisakarida

Ekstraksi terhadap kultur *P. cruentum* dilakukan pada umur kultur 3, 7, 11, dan 17 hari untuk mendapatkan ekso- dan endopolisakarida. Supernatan hasil sentrifugasi yang diperoleh untuk melakukan ekstraksi eksopolisakarida, sedangkan endapannya untuk ekstraksi endopolisakarida. Pada ekstraksi eksopolisakarida digunakan etanol untuk menggumpalkan polisakarida yang terlarut dalam medium. Sedangkan pada ekstraksi endopolisakarida pelarut yang digunakan diantaranya : kalsium klorida 1 % untuk mengeluarkan pigmen fikoeritrin dari sel, natrium hidroksida 0,75 N membantu ekstraksi polisakarida untuk mengkatalisis hilangnya gugus -6 sulfat dari urutan monomernya

dengan membentuk 3,6-anhidrogalaktosa sehingga dapat meningkatkan viskositas dan relativitas produk terhadap protein.

Berdasarkan hasil ekstraksi ekso- dan endopolisakarida, diperoleh bobot kering yang berbeda pada setiap kultur. Saat fase stasioner ( hari ke-17 ), bobot kering eksopolisakarida yang diperoleh pada percobaan berkisar 0,53-6,33 g/l sedangkan bobot kering dari endopolisakarida berkisar 0,06-1,56 g/l. Ternyata bobot kering dari eksopolisakarida memiliki nilai yang lebih besar bila dibandingkan dengan bobot endopolisakarida, hal ini menunjukkan bahwa cairan ekstraseluler yang diekskresikan ke dalam medium dengan penambahan molase memberikan pengaruh terhadap eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *P. cruentum* dan juga karena adanya sumber karbon organik dalam molase yang dapat membantu meningkatkan proses fotosintesis dalam menghasilkan senyawa organik. Eksopolisakarida tertinggi pada medium dengan penambahan molase 600 mg/l yaitu sebesar 6,33 g/l dengan kenaikan sebesar 81,67 % terhadap kontrol, hal ini disebabkan oleh adanya vitamin yang terkandung dalam molase terutama vitamin B1 dan B6 yang dapat memacu pertumbuhan biosintesis sel. Oleh karena itu semakin tinggi konsentrasi molase yang ditambahkan, maka semakin tinggi pula kandungan vitamin B1, B6 dalam media dan proses biosintesis sel pun meningkat.

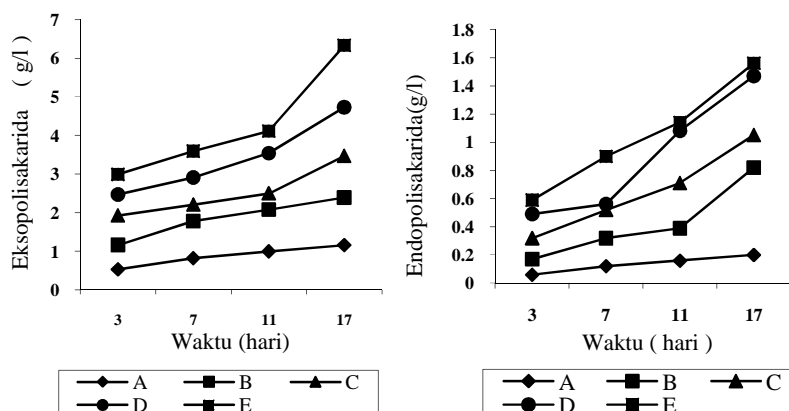
Hasil ekstraksi ekso- dan endopolisakarida dapat dilihat pada Gambar 2. Menurut Cohen, 1985, jumlah produksi rata-rata polisakarida yang dihasilkan oleh *Porphyridium* per hari sebesar 55 mg/l - 75 mg/l (bobot kering), jika dibandingkan dengan hasil penelitian bobot kering yang dihasilkan lebih tinggi, hal ini dikarenakan ekso- dan endopolisakarida masih berada dalam bentuk polisakarida kasar belum melalui proses pemurnian yang lebih lanjut.

#### Analisis Kadar Glukosa

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan oleh Percival & Foyle 1979, polisakarida dari *P. cruentum* mengandung komponen monosakarida xilosa, glukosa, dan galaktosa. Berdasarkan hal tersebut pada penelitian ini dilakukan analisis terhadap salah satu jenis monosakarida yaitu penentuan kadar glukosa. Analisis kadar glukosa yang digunakan adalah metode fenol sulfat yang terdiri dari fenol 5 %



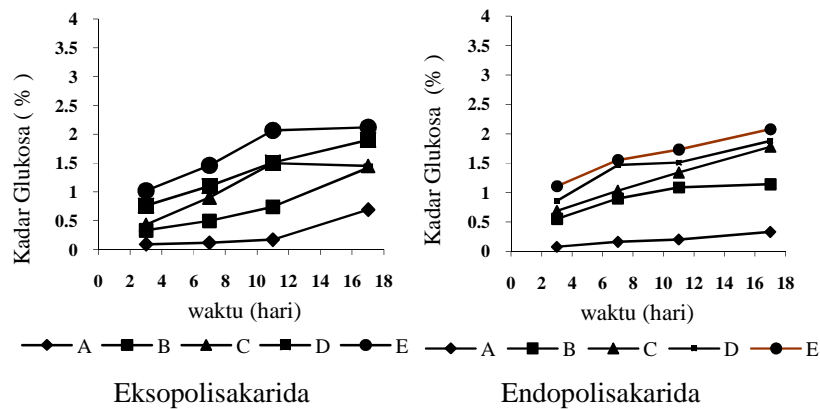
dan asam sulfat pekat. Metode ini digunakan karena lebih stabil dalam jangka waktu yang tidak terbatas. Asam sulfat berfungsi untuk menghancurkan sel dan mendegradasi polisakarida. Larutan fenol dalam suasana asam dan berkondensasi dengan monomer gula yang dihasilkan dari proses degradasi akan membentuk senyawa berwarna jingga. Intensitas warna larutan berbanding lurus dengan kandungan karbohidrat dalam sel.



Gambar 2. Grafik Pengukuran Bobot Kering Ekso – dan Endopolisakarida *Porphyridium cruentum* (g/l)

Ket: A : Kontrol ( medium tanpa molase ), B : Medium + molase 150 mg/l, C : Medium + molase 300 mg/l, D : Medium + molase 450 mg/l, E : Medium + molase 600 mg/l

Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh kadar glukosa dalam eksopolisakarida lebih besar daripada kadar glukosa dalam endopolisakarida. Kadar glukosa dalam ekso- maupun endopolisakarida semakin meningkat sampai hari ke-17 (fase stasioner). Kadar glukosa pada ekso- dan endopolisakarida tertinggi pada konsentrasi molase 600 mg/l, yaitu sebesar 2,12 % dalam eksopolisakarida ( dengan kenaikan 67,45 % terhadap kontrol) dan 2,08 % dalam endopolisakarida ( dengan kenaikan 84,13 % terhadap kontrol). Hasil analisis kadar glukosa dapat dilihat pada Gambar 3



Gambar 3. Grafik Pengukuran Kadar Karbohidrat Ekso- dan Endopolisakarida *Porphyridium. cruentum*

Ket: A : Kontrol ( medium tanpa molase ), B : Medium + molase 150 mg/l, C : Medium + molase 300 mg/l, D : Medium + molase 450 mg/l, E : Medium + molase 600 mg/l

Berdasarkan hasil uji statistik analisis variansi dua arah (Tabel 1 dan 2) terdapat perbedaan yang signifikan perlakuan penambahan konsentrasi molase berbeda dan waktu terhadap kadar glukosa pada ekso- maupun endopolisakarida. Semakin tinggi konsentrasi molase dan lamanya waktu kultivasi, maka semakin tinggi kadar glukosa yang didapat. Hal ini dikarenakan pengaruh senyawa organik dan sejumlah vitamin dalam molase yang mampu meningkatkan proses metabolisme *P. cruentum* dalam memproduksi ekso- dan endopolisakarida.

Tabel 1. Hasil Analisis Variansi Dua Arah Kadar Glukosa Eksopolisakarida

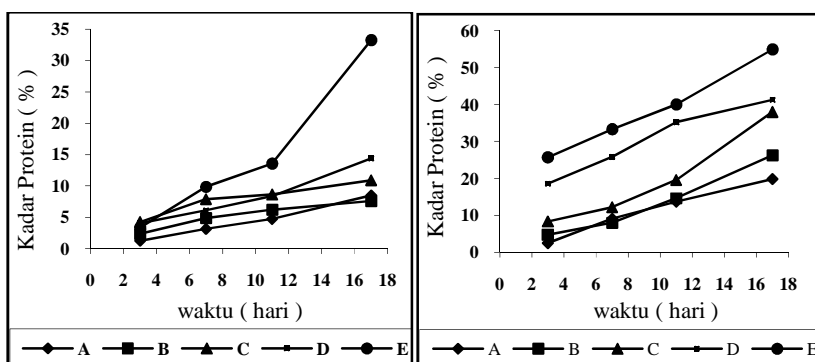
Sumber variasi	DB	JK	KR	Fhitung	Ftabel ( $\alpha = 0,05$ )
Waktu	3	8,416	2,805	121,957	2,84
Konsentrasi	4	13,853	3,463	150,565	2,61
Waktu*konsentrasi	12	1,347	0,023	4,870	2,00
Galat	40	0,903	0,112		
Total	59	24,519			

Tabel 2. Hasil Analisis Variansi Dua Arah (  $\alpha$  0,05 ) Kadar Glukosa Endopolisakarida

Sumber variasi	DB	JK	KR	Fhitung	Ftabel ( $\alpha=0,05$ )
Waktu	3	4,836	1,612	124,00	2,84
Konsentrasi	4	14,934	3,733	287,154	2,61
Waktu*konsentrasi	12	0,940	0,078	6,00	2,00
Galat	40	0,520	0,013		
Total	59	21,230			

### Analisis Kadar Protein

Polisakarida yang dihasilkan oleh *P. cruentum* ini masih berupa polisakarida kasar, didalamnya masih terkandung zat pengotor seperti protein, lipid, dan lain-lain. Berdasarkan hal itu, maka dilakukan penentuan kadar protein. Analisis kadar protein diuji dengan metode biuret yang terdiri dari kupri sulfat, natrium kalium tartrat, dan natrium hidroksida 10 %. Menurut Apriyantono, et. al 1989, terbentuknya kompleks antara ion  $\text{Cu}^{2+}$  dengan ikatan peptida menghasilkan warna ungu kebiruan. Metode biuret ini cukup selektif karena hanya bereaksi dengan atom nitrogen yang tergabung dalam ikatan peptida. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh kadar protein yang tinggi baik pada ekso- maupun endopolisakarida. Pada eksopolisakarida, kadar protein tertinggi pada konsentrasi 600 mg/l yaitu 33,23 % dan pada endopolisakarida tertinggi juga pada konsentrasi 600 mg/l yaitu 54,89 %. Jika dibandingkan dengan hasil kadar glukosa yang diperoleh, kadar protein jauh lebih tinggi. Hasil analisis kadar protein dapat dilihat pada Gambar 4

Gambar 4. Grafik Pengukuran Kadar Protein Ekso- dan Endopolisakarida *Porphyridium. cruentum*

Ket: A : Kontrol ( medium tanpamolase ), B : Medium + molase 150 mg/l, C : Medium + molase 300 mg/l, D : Medium + molase 450 mg/l, E : Medium + molase 600 mg/l

Berdasarkan hasil uji statistik analisis variansi dua arah terdapat perbedaan yang signifikan perlakuan penambahan konsentrasi molase berbeda dan waktu kultivasi terhadap kadar protein pada ekso- maupun endopolisakarida (Tabel 3 dan 4). Semakin tinggi konsentrasi dan lamanya waktu kultivasi, maka semakin tinggi kadar protein yang diperoleh. Penambahan molase dalam medium kultur mempengaruhi proses metabolisme *P. cruentum* dalam menghasilkan protein. Oleh karena itu semakin tinggi konsentrasi molase yang ditambahkan, maka proses metabolisme protein pun semakin meningkat.

Tabel 3. Hasil Analisis Variansi Dua Arah Kadar Protein Dalam Eksopolisakarida

Sumber variasi	DB	JK	KR	Fhitung	Ftabel ( $\alpha = 0,05$ )
Waktu	3	1128,292	376,097	301,118	2,84
Konsentrasi	4	830,870	207,718	166,307	2,61
Waktu*Konsentrasi	12	743,303	61,942	49,593	2,00
Galat	40	49,957	1,249		
Total	59	2752,422			

Tabel 4 Hasil Analisis Variansi Dua Arah Kadar Protein Endopolisakarida

Waktu	3	4829,412	1609,804	1295,577	2,84
Konsentrasi	4	6380,234	1595,059	1283,710	2,61
Waktu*Konsentrasi	12	314,614	26,216	21,100	2,00
Galat	40	49,702	1,243		
Sumber variasi	DB	JK	KR	Fhitung	Ftabel ( $\alpha = 0,05$ )
Total	59	11573,962			

#### Analisis KCKT

Analisis KCKT dilakukan untuk mengetahui komposisi monosakarida yang terdapat dalam *P. cruentum*. Polisakarida mempunyai ukuran molekul yang besar, berdasarkan hal itu sampel terlebih dahulu dihidrolisis untuk memecahkan polisakarida menjadi bentuk yang lebih sederhana (monosakarida). Proses hidrolisis dilakukan dengan menggunakan pelarut asam sulfat 4 N dan pemanasan selama 16 jam<sup>(27)</sup>.

Analisis KCKT dilakukan dengan menggunakan kolom bondapak karbohidrat ( 300 mm×3mm), fase gerak Air-asetonitril ( 40:60), waktu Alir 1 ml/menit, detektor RID, dan volume injeksi 50 µl.

Menurut penelitian Shimona Geresh dan Arad 1991, polisakarida sulfat dari *Porphyridium sp.* dalam medium baku terdiri atas komponen monosakarida yang berbeda diantaranya xylosa (38%), galaktosa (24 %), dan glukosa (22 %). Xilosa merupakan kandungan tertinggi yang terdapat dalam polisakarida sulfat. Dilaporkan bahwa polisakarida sulfat diperoleh dengan menggunakan pereaksi campuran CISO<sub>3</sub>H dan piridin pada temperatur 70°C. Analisis dilakukan dengan KCKT menggunakan kolom TSK gel G-5000 PW-2 (TOSOHAAS) dan detektor RI.

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, analisis KCKT pada sampel eksopolisakarida (konsentrasi molase 600 mg/l) diperoleh kadar glukosa 0,598 %, xilosa 0,035 %, dan galaktosa 0,042 %. Sedangkan pada sampel endopolisakarida (konsentrasi molase 600 mg/l) diperoleh kadar glukosa 0,353 %, xilosa 0,206 %, dan galaktosa 0,096 %. Dalam penelitian glukosa merupakan komponen tertinggi yang dihasilkan oleh *P. cruentum*. Analisis yang dilakukan dengan menggunakan KCKT detektor refraktometer diferensial (R-400, waters), pompa (515, waters), rekorder (D-2500, Hitachi) (Tabel 5)

Tabel 5. Hasil Analisis KCKT Ekso dan Endopolisakarida *P. cruentum*

No.	Sampel	Hasil		
		Glukosa (%)	Xilosa (%)	Galaktosa (%)
1	Eksopolisakarida	0.598	0.035	0.042
2	Endopolisakarida	0.353	0.206	0.096

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang telah diperoleh, dapat disimpulkan bahwa :

1. Penambahan konsentrasi molase kedalam medium kultur tidak menghambat pertumbuhan *P. cruentum*.
2. Penambahan berbagai konsentrasi molase berbeda berpengaruh secara nyata terhadap pembentukan ekso- dan endopolisakarida dari mikroalga *P. cruentum*.
3. Pembentukan ekso- dan endopolisakarida tertinggi pada konsentrasi molase 600 mg/l.

**DAFTAR PUSTAKA**

- Anonim.2002. Budidaya Fitoplankton & zooplankton. seri Budidaya Laut no.9,Balai Budidaya Laut Lampung Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya Departemen Kelautan dan Perikanan,,hal 27,29.
- Baker.B.P.,1980.Composition Properties and Uses of Molasses and Related Product”, United Molasses Trading Company Limited, hal 179.
- Becker, E.W., 1994. Microalgae, Biotechnology and Microbiology, Cambridge University Press, New York, hal.10-13, 24-28.
- Cohen, Z., 1999. Chemicals from Microalgae. Ben Gurion University of the Negev, Israel. Taylor & Francis
- Fogg, G.E., 1989. Algae Culture and Phytoplankton Ecology, The University of Wisconsin Press, London, hal : 18-20.
- Geresh, S.,Mamontov, A., Weinstein, J.,2002Sulfation of Extracellular Polysaccharides of Red Microalgae : Preparation, Characterization, and Properties, Journal of Biochemical and Biophysical Methods, Vol 50, hal. 179-187.
- Hisamatsu, M., 1996. Isolation of Rhizobium, Production Polysaccharide and Analysis of Sugar Component, Workshop of Plant Biotechnology Project in Chiang Mai University, Thailand, Januari, hal 3.
- Huheihel, M., Ishanu, V., Tal, J., and Arad, S., 2002. Activity of *Porphyridium* sp. Polysaccharides Against Herpes Simplex Viruses In vitro and In vivo, Journal of Biochemical and Biophysical Methods, Vol 50, hal 189-200.
- Kennedy, J.F., 1988. Carbohydrate Chemistry , Oxford University Press, New York, hal.33..
- Paturau, J.M., 1982. By Product of The Cane Sugar Industry, Elsevier Scientific : Amsterdam, hal.169-170.
- Percival, E. and Foyle, R.A.J., 1979. The Extracellular Polysaccharides of *Porphyridium cruentum* and *Porphyridium areuginum*, Carbohydrate Research, vol 72, hal 165-176.
- Smith, G.M., 1985. Cryptogamic Botany ( Algae and Fungi ).2<sup>nd</sup> Edition, Mc Graw Hill Book Company, Inc, New York, Toronto, London, hal 294-295.
- Vonshak, A., 1988. *Porphyridium*, Dalam Borowitzka, M.A dan L.J, Borowitzka, Mikro-alga Biotechnology, Cambridge University Press,New York, hal.122-132, 175-176.
- V. Gluaguen, G. Ruiz, H. Morvan, A.M. Givernaud, E. Maes, P. Kraus, G. Streker. 2004. The Extracellular Polysaccharide of *porphyridium* sp; an NMR Study of Lithium resistant oligosaccharide fragments. Carbohydrat research. Elsiwier Ltd. 339;97-103