

PENGARUH PERBEDAAN PRE-TREATMENT TERHADAP STABILITAS KAROTENOID DAN FENOL PADA EKSTRAK *Sargassum duplicatum* SELAMA PENYIMPANAN

by Eko Susanto

Submission date: 04-Mar-2023 01:41PM (UTC+0700)

Submission ID: 2028621772

File name: C.1.9..pdf (427.88K)

Word count: 5378

Character count: 31690

PENGARUH PERBEDAAN *PRE-TREATMENT* TERHADAP STABILITAS KAROTENOID DAN FENOL PADA EKSTRAK *Sargassum duplicatum* SELAMA PENYIMPANAN

Ayunda Dita Wardani, Eko Susanto*, Eko Nurcahya Dewi, Lukita Purnamayati

Departemen Teknologi Hasil Perikanan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Jalan Prof Soedarto SH, Tembalang, Semarang, Jawa Tengah – 50275, Telp/Fax +6224 7474698

*Korespondensi: eko.susanto@live.undip.ac.id

Diterima: 22 Mei 2020/Disetujui: 5 Agustus 2020

Cara sitasi: Wardani AD, Susanto E, Dewi EN, Purnamayati L. 2020. Pengaruh perbedaan *pre-treatment* terhadap stabilitas karotenoid dan fenol pada ekstrak *Sargassum duplicatum* selama penyimpanan. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 23(2): 236-247.

Abstrak

Karotenoid, fukosantin dan fenol merupakan senyawa yang terkandung pada rumput laut *Sargassum duplicatum*. Senyawa-senyawa ini berperan dalam menghambat radikal bebas. Namun, kemampuan penghambatan radikal bebas senyawa ini mempunyai kestabilan yang rendah, terutama terhadap perlakuan suhu. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh *pre-treatment* suhu tinggi (*blanching*) dan suhu rendah (pembekuan) serta perlakuan terbaik yang dapat mempertahankan stabilitas senyawa aktif pada ekstrak metanol rumput laut selama penyimpanan. Metode penelitian yang digunakan adalah *experimental laboratories* menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) faktorial 2x5 yaitu pola terbagi menjadi faktor suhu pengolahan (suhu tinggi dan suhu rendah) dan lama penyimpanan (0, 2, 4, 6, dan 8 hari). *Blanching* dilakukan pada suhu 95°C sedangkan pembekuan pada suhu -27°C. Hasil penelitian menunjukkan karotenoid, fukosantin, dan senyawa fenol dengan perlakuan *blanching* lebih stabil dibandingkan perlakuan pembekuan. Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa adanya interaksi antara *pre-treatments* dan lama penyimpanan yang berpengaruh nyata terhadap nilai total karotenoid, kandungan fukosantin, total kandungan fenol, dan nilai perubahan warna (ΔE).

Kata kunci: *blanching*, fenol, fukosantin, karotenoid

28

The effect of different *pre-treatments* on carotenoid and phenol stability of *Sargassum duplicatum* methanol extract during storage

Abstract

Carotenoids and phenols, compounds contained in seaweed, have free radical scavenging activities. However, both compounds have low stability. Temperature, in particular, may affect the stability of both compounds. The aim of this study was to determine the effects of different *pre-treatments*, namely, *blanching* (high temperature) and freezing (low temperature), on maintaining the stability of methanol extracts of *Sargassum duplicatum* during storage at room temperature. The research method used was an experimental laboratory study using the basic design of a completely randomized design with a factorial pattern of 2x5, which was divided into the factors of processing temperature (high and low temperature) and storage time (0, 2, 4, 6, and 8 days). *Blanching* was carried out at a temperature of 95°C, whereas freezing was carried out at -27°C. The results showed that carotenoids, fucoxanthin, and phenol compounds were more stable in the *blanching* treatment than in the freezing treatment. This study showed that *blanching* effectively delayed the degradation of carotenoids, fucoxanthin, and phenol content during storage at room temperature.

Keywords: *blanching*, carotenoids, fucoxanthin, phenol

PENDAHULUAN

Sargassum merupakan salah satu genus rumput laut cokelat yang mempunyai potensi produksi sebesar 482.400 ton/tahun (Basmal 2009). Potensi *Sargassum* berkaitan dengan kandungan senyawa bioaktif antara lain karotenoid dan polifenol (Milledge *et al.* 2016). Karotenoid merupakan senyawa

isoprenoid yang larut dalam lemak dan memberikan warna kuning, merah dan jingga pada buah, bunga, burung, dan udang (Fraser and Bramley 2004; Yilmaz *et al.* 2015). Karotenoid bersama dengan klorofil berkontribusi memberikan warna cokelat atau hijau zaitun pada *Phaeophyta* (Hosokawa *et al.* 2009). Jenis karotenoid yang dominan terdapat

dalam *Sargassum* sp. adalah fukosantin (Fs) (Susanto *et al.* 2016, Susanto *et al.* 2019). Sedangkan senyawa fenol merupakan metabolit sekunder berbentuk cincin benzen aromatik yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat langsung dengan cincin aromatik, termasuk turunan fungsionalnya. Pada rumput laut, senyawa ini mempunyai struktur yang sederhana seperti asam fenolat hingga yang paling kompleks yaitu florotanin (Mekini'c *et al.* 2019).

Salah satu metode untuk mengekstrak senyawa bioaktif pada rumput laut adalah dengan menggunakan pelarut metanol. Beberapa penelitian yang menggunakan pelarut metanol untuk ekstraksi di antaranya ekstraksi rumput laut *Padina* dan *E. cottonii* (Maharany *et al.* 2017), *E. cottonii* dan *Sargassum plagyophlum* (Dolorosa *et al.* 2019; Dolorosa *et al.* 2017), *E. cottonii* dan *Turbinaria* sp. (Yanuarti *et al.* 2017), *E. cottonii* dan *Sargassum* sp. (Hidayat *et al.* 2018; Luthfiyana *et al.* 2016; Nurjanah *et al.* 2017), dan *Caulerpa* (Nurjanah *et al.* 2016). Ekstrak metanol pada rumput laut cokelat mempunyai aktivitas antioksidan yang tinggi dan berpotensi dapat diaplikasikan pada pangan dan industri farmasi (Sullivan *et al.* 2011). Ekstrak metanol rumput laut cokelat mengandung beberapa senyawa antara lain karotenoid (Aranthi *et al.* 2011, Zaragoza *et al.* 2008), fenol (Aranthi *et al.* 2009, Sullivan *et al.* 2011; Jaswir *et al.* 2014), klorofil (Rattaya *et al.* 2014), dan lain-lain. Karotenoid dan fenol mempunyai aktivitas sebagai antioksidan yang tinggi (Fiedor dan Burda 2014; Vinson *et al.* 2001) namun memiliki tingkat kestabilan yang rendah. Faktor cahaya, suhu, oksidator, reduktor, pH, dan peran enzim dalam proses degradasi (Kerasely and Rodriguez 1981; Ali *et al.* 2018) berpengaruh terhadap tingkat kestabilan kedua senyawa tersebut.

Studi tentang kestabilan karotenoid dan fenol yang diekstrak dari rumput laut telah dilakukan oleh beberapa penelitian sebelumnya. Yip *et al.* (2014) menguji stabilitas fukosantin yang diekstrak dari *S. binderi* terhadap beberapa parameter seperti pH, cahaya, dan suhu. Stabilitas pigmen dari *S. duplicatum* terhadap penambahan

oksidator dan reduktor juga telah dilakukan (Rahmawaty *et al.* 2014). Florotanin, senyawa fenol pada rumput laut cokelat, yang diisolasi dari *Fucus vesiculosus* diuji stabilitasnya pada berbagai suhu penyimpanan (Kirke *et al.* 2017). Selain faktor-faktor tersebut, perbedaan metode pengolahan/*pre-treatment* juga memengaruhi kestabilan pigmen dan total fenol (Susanto *et al.* 2017). Namun sedikit sekali penelitian yang dilakukan untuk efek perbedaan *pre-treatment* terhadap stabilitas senyawa yang terkandung pada ekstrak rumput laut.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh perbedaan *pre-treatment* terhadap kandungan karotenoid, pigmen, dan fenol pada ekstrak metanol *S. duplicatum* dan *pre-treatment* terbaik yang memengaruhi kestabilan kedua senyawa tersebut selama penyimpanan pada suhu ruang.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *S. duplicatum* yang diambil dari perairan Bandengan Jepara. Bahan kimia yang digunakan untuk penelitian ini adalah metanol teknis, *acetonitril pro analysis* (Merck), *methanol pro analysis* (Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), *Folin Ciocalteu 2N* (Sigma-Aldrich), dan sodium karbonat (Sigma-Aldrich).

Peralatan yang digunakan untuk pengujian antara lain *waterbath* (Wisebath), *freezer*, *rotary vacum evaporator* (Buchi R-210), timbangan analitik (Durascale), sonikator (Shimadzu), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC) LC20AD UV detector (Shimadzu), *Digital Color Meter GM5223LSG* (Apple).

Pre-treatment dan ekstraksi

S. duplicatum

S. duplicatum dicuci menggunakan air tawar untuk menghilangkan semua kotoran dan epifit yang menempel. Selanjutnya diberi dua perlakuan yang berbeda yaitu direndam dengan teknik *hot water blanching* (90°C selama 90 detik) (Liu *et al.* 2011) dan penyimpanan

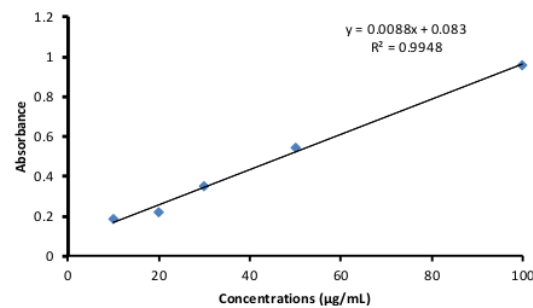


Figure 1 Phenolic content standard prepared from gallic acids.

di refrigerator (-27°C selama 7 hari). Setelah dilakukan perlakuan *pre-treatment* dilakukan ekstraksi berdasarkan Hii *et al.* (2010), dengan merendam *S. duplicatum* pada pelarut metanol selama satu malam. Selanjutnya, dipisahkan antara pelarut dan ekstrak dengan *rotary evaporator* suhu (35–40°C) sehingga diperoleh ekstrak metanol *S. duplicatum*.

Penyimpanan ekstrak *S. duplicatum*

Konsentrat ekstrak metanol *S. duplicatum* dilarutkan kembali ke dalam metanol dengan konsentrasi 2 mg/ml untuk setiap botol vial (30 mL) dan dihomogenisasi dengan sonikator kemudian dialiri gas N₂ untuk menghilangkan O₂ yang dapat berperan sebagai oksidator selama proses penyimpanan. Selanjutnya, ekstrak disimpan pada suhu ruang dan terpapar sinar matahari (33–37°C) selama delapan hari. Setiap dua hari ekstrak metanol *S. duplicatum* diuji kandungan karotenoid dan fukosantin, uji total kandungan fenol, dan uji total perubahan warna (ΔE).

Uji total karotenoid

Metode yang digunakan dalam pengujian total karotenoid berdasarkan Lichtenthaler dan Buschmann (2001). Spektrofotometer UV-Vis diatur untuk menguji sampel pada tiga panjang gelombang yang berbeda yaitu 665, 652, dan 470 nm. Angka absorbansi ditampilkan pada layar. Angka yang telah didapatkan dimasukkan ke dalam rumus kandungan total karotenoid dengan pelarut Metanol (*pure solvent*), yaitu:

$$\begin{aligned} \text{ca } (\mu\text{g/mL}) &= 16,72 A_{665} - 9,16 A_{652} \\ \text{cb } (\mu\text{g/mL}) &= 34,09 A_{665} - 15,28 A_{652} \\ \text{c(x+c) } (\mu\text{g/mL}) &= \frac{(1000 A_{470} - 1,63 \text{ ca} - 95,15 \text{ cb})}{225} \end{aligned}$$

Analisis kandungan fukosantin

Pengujian fukosantin (Fs) pada ekstrak rumput laut dilakukan berdasarkan Susanto *et al.* (2016). Sekitar 20 µL sampel ekstrak rumput laut yang dilarutkan dalam metanol digunakan untuk menganalisis fukosantin. Sebelum injeksi, ekstrak sampel disaring melalui *bulk Acrodisc PSF Syringe Filter 0,45 µm GHP membrane*, 25 mm. Analisis dilakukan dengan menggunakan fase gerak gradien biner yang terdiri dari metanol (A)/asetonitril (B) (7:3). Laju aliran adalah 1 mL/menit dari 0 sampai 30 menit. Deteksi kromatografi Fs dilakukan pada panjang gelombang 450 nm.

Uji kandungan total fenol

Pengujian kandungan total fenol (TF) dilakukan berdasarkan Kuda *et al.* 2005. Sebanyak 100 µL larutan sampel ke 750 µL 10% larutan *Folin-Ciocalteu* kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah lima menit, 750 µL 6% Na₂CO₃ ditambahkan dan campuran dibiarkan pada suhu 37°C selama 30 menit dalam gelap. Absorbansi diukur pada 750 nm. TPC untuk setiap ekstrak rumput laut kemudian dihitung atas dasar kurva standar asam galat dan dinyatakan sebagai mg asam galat (GA)/g ekstrak. Total fenol dalam µg GAE/g didapatkan dengan mengalibrasikan hasil pengukuran dengan persamaan kurva standar asam galat $y = 0,0088x + 0,083$ dan $R^2 = 0,9948$ (Figure 1). Total fenol dalam bahan dihitung dengan rumus:

$$\text{Total Fenol (mg GAE/g)} = \frac{C \text{ GAE} \times \text{volume (mL)}}{\text{Massa bahan (g)}}$$

Nilai total perubahan warna (ΔE)

Warna ekstrak dapat ditentukan dengan mengukur nilai L, a*, and b*. Prosedur kerja

pengujian warna yaitu ekstrak ditempatkan di dalam wadah berbentuk cekung berwarna putih dan diletakkan di bawah kamera digital dan cahaya lampu berwarna putih. Pada perangkat lunak *Digital Color Meter* akan terlihat warna yang terekam oleh kamera kemudian kursor diarahkan pada bagian dalam gambar yang menunjukkan keberadaan ekstrak. Nilai L, a*, dan b* akan terlihat pada layar komputer. Perhitungan nilai total perubahan warna (ΔE) menggunakan rumus berikut:

$$\Delta E = ((\Delta L)^2 + (\Delta a)^2 + (\Delta b)^2)^{1/2}$$

Analisis data

Rancangan percobaan yang digunakan yaitu rancangan acak lengkap (RAL) faktorial dengan dua suhu dan lima waktu penyimpanan. Data diolah menggunakan SPSS 21. Data hasil pengujian selanjutnya diuji statistik dengan uji normalitas, uji homogenitas, uji ANOVA, dan uji lanjut (BNJ).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perubahan Karotenoid selama Penyimpanan

Karotenoid merupakan pigmen yang larut dalam lemak sehingga senyawa ini dapat terekstrak dalam pelarut organik metanol (Park *et al.* 2007). Rumpun laut cokelat mengandung beberapa jenis karotenoid antara lain zeaksantin (Zs), violasantin (vs), beta-karoten (β -kar), dan Fs (Susanto *et al.* 2019). Karotenoid pada ekstrak metanol *S. duplicatum* mengalami degradasi selama penyimpanan suhu ruang yang terpapar sinar matahari (Figure 2).

Ekstrak metanol *S. duplicatum* selama penyimpanan pada suhu ruang mengalami penurunan yang signifikan pada awal penyimpanan (hari ke-0–2), selanjutnya cenderung stabil hingga akhir penyimpanan pada kedua perlakuan. Hasil kandungan total karotenoid pada hari kedua perlakuan *blanching* lebih besar satu setengah kali lipat dibandingkan dengan perlakuan beku. Pada akhir penyimpanan (hari ke-8) terjadi penurunan karotenoid sebesar 53,14% (*blanching*) dan 70,97% (beku). Hasil tersebut menunjukkan bahwa *blanching* memberikan kestabilan lebih baik terhadap kandungan total karotenoid pada ekstrak metanol *S. duplicatum* dibandingkan pembekuan. *Blanching* diketahui mampu mempertahankan kandungan karotenoid pada goseberi (Ahn dan Coe 2015), wortel (Behesnilian dan Mayer-Mieback 2017), akar seledri (Priecina *et al.* 2018) dibandingkan tanpa *treatment blanching*. Selain itu, *blanching* mampu mempertahankan kandungan karotenoid pada wortel kintoki dibandingkan dengan penyimpanan beku (Mayer dan Spiess 2003).

Hal ini dikarenakan perlakuan *blanching* mampu menghambat aktivitas enzim sehingga memperlambat proses oksidasi dan degradasi karotenoid. Aktivitas enzim atau sistem enzim dapat dirusak pada suhu $\pm 200^\circ\text{F}$ ($93,3^\circ\text{C}$). Enzim masih memiliki sebagian aktivitasnya pada suhu -100°F ($-37,8^\circ\text{C}$) walaupun kecepatan reaksinya sangat rendah pada suhu tersebut (Rohanah 2002). Enzim lipoxigenase yang berperan dalam degradasi

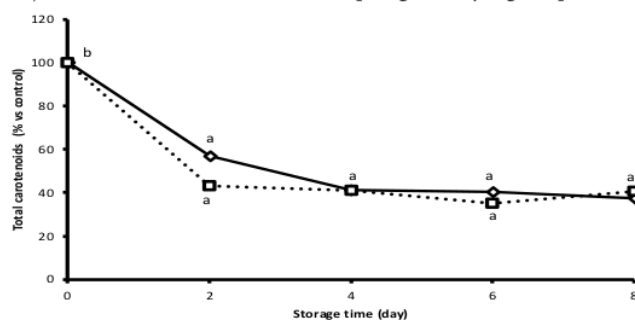


Figure 2 Total carotenoids changes of *Sargassum duplicatum* methanol extract during storage at room temperature ($33\text{--}37^\circ\text{C}$) exposed to sunlight; results are expressed as mean $\pm$ SD of triplicates samples; $\diamond$ blanching $\square$ frozen; Different superscript on the same row indicated significant difference ($p < 0.05$) vs control (day 0).

pigmen golongan karotenoid (Biac dan Daood 2001; Gayen *et al.* 2015) dapat diminimalisasi/diinaktivasi dengan proses *blanching* (Garrotte *et al.* 2004).

Penurunan jumlah kandungan karotenoid menandakan adanya proses degradasi menjadi beberapa produk degradasinya selama penyimpanan pada suhu ruang dan adanya paparan cahaya sinar matahari. Pengaruh suhu dan paparan sinar matahari mempercepat proses degradasi karotenoid selama penyimpanan (Gouveia dan Empis, 2003) seperti β -kar (Liu *et al.* 2009), Fs (Zhao *et al.* 2018), dan Zs (Xiao *et al.* 2018).

Penyimpanan suhu ruang yang berkisar antara (33-37°C) berperan dalam mempercepat proses degradasi menjadi senyawa turunannya. Stabilitas karotenoid tersebut berkaitan dengan keberadaan ikatan rangkap dalam struktur molekul karotenoid, menyebabkan terjadinya perubahan struktur dengan mudah. Degradasi karotenoid akan menyebabkan terbentuknya senyawa turunan *cis* karena proses isomerisasi yang dipicu oleh cahaya, suhu, asam, enzim, dan sebagainya (Heriyanto dan Limantara 2010).

Perubahan Fs selama Penyimpanan

Fukosantin merupakan karotenoid yang paling dominan di rumput laut cokelat termasuk jenis *Sargassum* (Nomura *et al.* 2013; Susanto *et al.* 2016; Susanto *et al.* 2019). Selama penyimpanan pada suhu ruang, Fs pada ekstrak metanol *S. duplicatum* mengalami degradasi (Figure 3).

Pada awal penyimpanan (hari ke-0) penyimpanan, kandungan Fs berbeda pada setiap perlakuan. Kandungan Fs pada perlakuan *blanching* sebanyak 73,7 mg/L sedangkan pada perlakuan beku sebanyak 110,6 mg/L. Adanya perbedaan jumlah kandungan Fs terhadap kedua perlakuan pada hari ke-0 karena pada perlakuan *blanching* menggunakan suhu tinggi yang dapat menyebabkan adanya degradasi Fs. Pada penyimpanan hari ke-0 hingga hari ke-2 terjadi penurunan Fs yang signifikan pada kedua perlakuan. Hingga akhir penyimpanan kandungan Fs mengalami penurunan hingga 80,44% (*blanching*) dan 87,51% (pembekuan) (Figure 2). Hasil tersebut diperkuat dengan hasil kromatogram (Figure 4) antar kedua perlakuan. Jumlah penurunan Fs berkorelasi dengan penurunan jumlah total karotenoid (Figure 2) dalam ekstrak metanol *S. duplicatum*. Hal ini dikarenakan Fs merupakan karotenoid yang dominan pada *Sargassum* sp. (Terasaki *et al.* 2009; Nomura *et al.* 2013; Yip *et al.* 2014; Susanto *et al.* 2016; Susanto *et al.* 2019). Selama penyimpanan pada suhu ruang terjadi proses isomerisasi (*trans* ke *cis*) Fs. Proses degradasi akan menghasilkan turunan senyawa fukosantin yaitu 9'-*cis* Fs, 13-*cis* Fs, dan 13'-*cis* Fs (Heo *et al.* 2008). Proses perubahan tersebut disebabkan oleh suhu yang tinggi baik pada saat ekstraksi dan saat penyimpanan (Hii *et al.* 2010; Bonn *et al.* 2010; Kawee-ai *et al.* 2013; Susanto *et al.* 2017; Zhao *et al.* 2019) maupun pengaruh cahaya

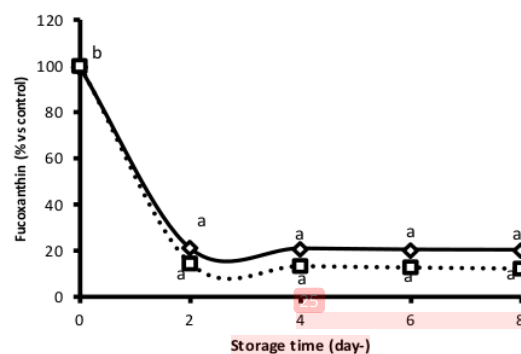


Figure 3 Fucoxanthin content changes of *Sargassum duplicatum* methanol extract during storage at room temperature (33-37°C) exposed to sunlight; results are expressed as mean $\pm$ SD of triplicates samples; different superscript on the same row indicated significant difference ($p < 0.05$) vs day 0.

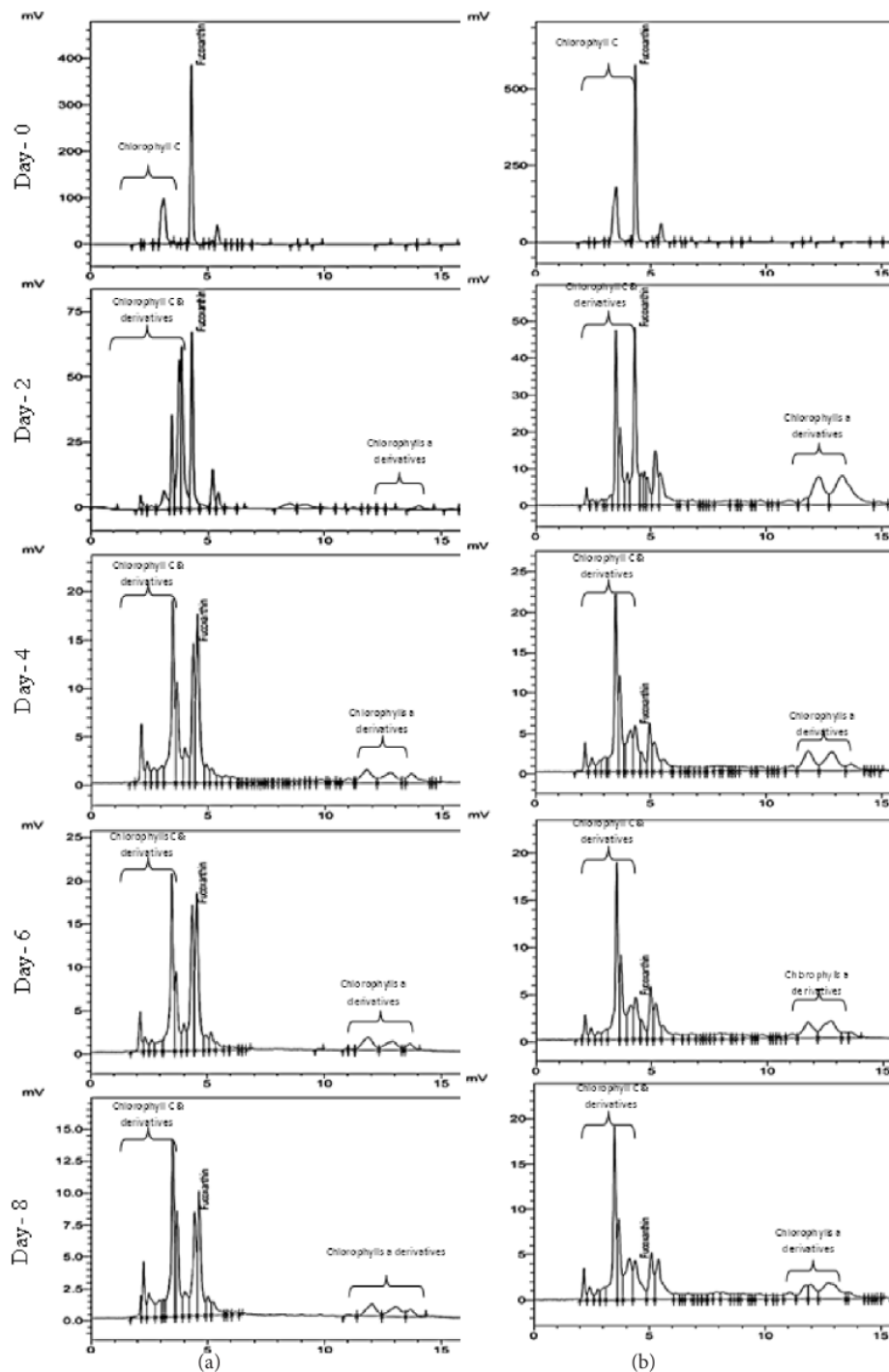


Figure 4 Representative chromatogram of pre-treatment of *Sargassum duplicatum* methanol extract during storage at room temperature (33-37°C) exposed to sunlight; (a) blanching; (b) freezing

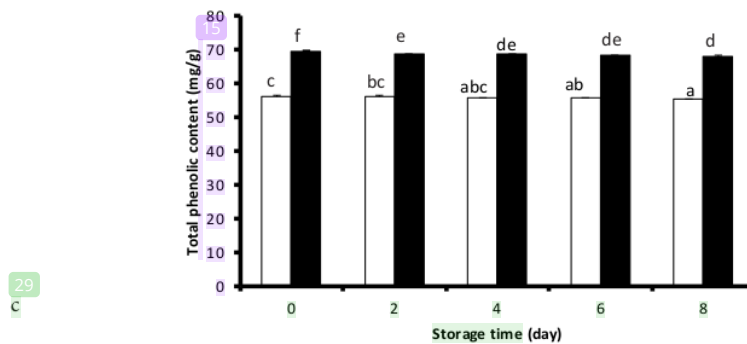


Figure 5 Changes of total phenolic content of *Sargassum duplicatum* methanol extract during storage at room temperature (33-37°C) exposed to sunlight; results are expressed as mean±SD of triplicates samples; □ blanching; ■ frozen.

(Yip *et al.* 2014). Salah satu penyebab ketidakstabilan Fs selama penyimpanan adalah adanya ikatan allenik yang menyebabkan stabilitasnya rendah (Zhang *et al.* 2015)

Kandungan Total Fenol

Ekstrak metanol pada rumput laut cokelat *Sargassum* mengandung senyawa fenol (Magnusson *et al.* 2017; Puspita *et al.* 2017) antara lain *eckol*, asam galat, florotanin, katekin, epikatekin, *quercetin*, dan *phlorotannin* (Mekini' *et al.* 2019). Untuk mengetahui perubahan total fenol (TF) pada ekstrak metanol *S. duplicatum* maka pada penelitian ini melihat perubahan TF pada kedua *pre-treatment* (Figure 5).

Kandungan TF pada perlakuan *blanching* lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan beku. Hal ini sesuai dengan penelitian Cox *et al.* (2011) dan Susanto *et al.* (2017) bahwa *blanching* menurunkan kandungan TF pada rumput laut.

Selama penyimpanan kandungan TF lebih stabil dibandingkan karotenoid maupun fukosantin. Hingga akhir penyimpanan (hari ke-8), kandungan fenol turun sebesar 1,24% (perlakuan *blanching*) dan 2,23% (perlakuan beku). Proses degradasi senyawa fenol berjalan lambat pada penelitian ini. Hal ini dikarenakan TF lebih stabil dibandingkan dengan karotenoid (Donado-Pestana *et al.* 2012).

Penurunan kandungan TF pada perlakuan beku lebih banyak dibandingkan dengan

perlakuan pengolahan *blanching*. Berdasarkan hasil tersebut, terlihat bahwa *blanching* mampu mempertahankan senyawa fenol dibandingkan dibandingkan pembekuan.

Total Perubahan Warna (ΔE)

Total perubahan warna menunjukkan terjadinya perubahan warna secara keseluruhan pada sampel selama penyimpanan. Total perubahan warna yang terjadi cukup signifikan. Hasil total perubahan warna perlakuan *blanching* hingga hari ke-8 sebesar 39,60 dengan nilai L^* 69,47 sedangkan pada perlakuan beku total perubahan sebesar 57,00 dengan nilai L^* 81,77. Perubahan warna berkaitan dengan penurunan kandungan pigmen pada ekstrak metanol *S. duplicatum* yang diakibatkan oleh perubahan struktur pada karotenoid dan derivat klorofil (Figure 4). Ekstrak metanol *S. duplicatum* tidak hanya mengandung karotenoid tetapi juga mengandung klorofil dan derivatnya. Nilai total perubahan warna (ΔE) yang diperoleh dapat dilihat pada Table 1.

Nilai total perubahan warna lebih besar pada *pre-treatment blanching* dibandingkan dengan *pre-treatment* beku. Penyimpanan yang dilakukan di ruang terbuka memungkinkan kontak langsung dengan cahaya sehingga menyebabkan reaksi foto-oksidasi yang berakibat terdegradasinya senyawa karotenoid maupun klorofil. Isomer *cis* tetap mempertahankan sifat warna dari karotenoid asalnya, sedangkan produk degradasi tidak

Table 1 Changes of lightness and color of *S. duplicatum* metanol extract during storage at room temperature

Treatment	Storage time (days)	Lightness (L*)	Color changes (ΔE)
Blanching	0	45.49 $\pm$ 3.65	0 $\pm$ 0 ^a
	2	51.03 $\pm$ 2.96	12.47 $\pm$ 2.09 ^b
	4	53.63 $\pm$ 0.88	30.94 $\pm$ 4.06 ^c
	6	63.63 $\pm$ 2.15	37.39 $\pm$ 2.57 ^d
	8	69.47 $\pm$ 0.75	39.60 $\pm$ 1.21 ^d
Freezing	0	62.04 $\pm$ 1.48	0 $\pm$ 0 ^a
	2	71.66 $\pm$ 0.52	12.29 $\pm$ 1.14 ^b
	4	72.58 $\pm$ 1.19	37.31 $\pm$ 2.08 ^d
	6	77.69 $\pm$ 1.49	46.65 $\pm$ 1.03 ^c
	8	81.77 $\pm$ 2.20	57.00 $\pm$ 1.73 ^f

Note: Results are expressed as the mean $\pm$ SD of triplicates samples; different superscript letters in a row show the significant differences ($p < 0.05$)

berwarna karena menghasilkan kromofor yang lebih pendek (Heriyanto dan Limantara 2010). Sedangkan klorofil akan berubah menjadi produk derivatnya yang berwarna abu-abu.

Hal ini juga terjadi pada penelitian Hii *et al.* (2004), semua sampel yang disimpan dalam kondisi gelap menunjukkan nilai *chroma* tinggi dan peningkatan nilai kecerahan yang rendah jika dibandingkan dengan sampel yang terkena cahaya, menunjukkan stabilitas karotenoid yang lebih baik akan terjadi dengan ketidakhadiran dari sumber cahaya.

Kenaikan total perubahan warna berhubungan dengan penurunan kadar karotenoid dan fukosantin serta naiknya kandungan derivat klorofil. Semakin turun kandungan pigmen maka akan semakin tinggi nilai total perubahan warna. Warna ekstrak metanol *S. duplicatum* dengan pengolahan *blanching* berubah dari warna hijau kuning pekat menjadi kuning bening pada hari ke-8. Pada pengolahan beku perubahan lebih jelas terlihat dari hijau kuning sangat pekat menjadi kuning bening pada hari ke-8. Hii *et al.* (2010) melaporkan bahwa semakin besar nilai L maka mengindikasikan warna sampel semakin terang. Pendapat lain disebutkan oleh Kartikaningsih dan Zaelani (2014), bahwa degradasi pigmen juga bisa dilihat dari pemucatan warna yang diduga disebabkan oleh pemutusan ikatan rangkap.

KESIMPULAN

Perbedaan *pre-treatment* pada *S. duplicatum* sebelum diekstrak berpengaruh terhadap kestabilan karotenoid, Fs, dan fenol pada metanol ekstrak *S. duplicatum* selama penyimpanan suhu ruang. Nilai kandungan karotenoid, Fs, dan fenol menurun selama penyimpanan, sedangkan nilai kecerahan dan total nilai perubahan warna pada sampel meningkat. *Pre-treatment blanching* mampu mempertahankan stabilitas karotenoid dan Fs rumput laut pada ekstrak *S. duplicatum* selama penyimpanan pada suhu ruang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Diponegoro yang telah membiayai sebagian dari penelitian ini dengan skim Riset Penerapan dan Pengembangan tahun 2016.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahn H, Cheo E. 2015. Effects of blanching and drying on pigments and antioxidants of darsoon (shoot of the Siberian gooseberry tree, *Actinidia arguta* Planchon). *Food Science and Biotechnology*. 24:1265–1270.
- Airanthi MKWA, Hosokawa M, Miyashita K. 2011. Comparative antioxidant activity of edible Japanese brown seaweeds. *Journal of Food Science*. 76 (1): C104–111

- Ali A, Chong CH, Mah SH, Abdullah LC, Shean T, Choong Y, Chua BL. 2018. Impact of storage conditions on the stability of predominant phenolic constituents and antioxidant activity of dried *Piper betle* extracts. *Molecules*. 23(2):484
- Basmal J. 2009. Prospek pemanfaatan rumput laut sebagai bahan pupuk organik. *Squalen*. 4(1):1-7.
- Behnsilian D, Mayer-Miebach E. 2017. Impact of blanching, freezing and frozen storage on the carotenoid profile of carrot slices (*Daucus carota* L. cv. Nutri Red). *Food Control*. 73 (B):761-767.
- Boon CS, McClements J, Weiss J, Decker EA. (2010) Factors influencing the chemical stability of carotenoids in foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 50(6): 515-532.
- Cox S, Gupta S, Abu-Ghannam N. 2011. Application of response surface methodology to study the influence of hydrothermal processing on phytochemical constituents of the Irish edible brown seaweed *Himanthalia elongata*. *Botanica Marina*. 54(5):471-480.
- Dolorosa MT, Nurjanah, Purwaningsih, Anwar E, Hidayat T. 2019. Tyrosinase inhibitory activity of *Sargassum plagyophyllum* and *Eucheuma cottonii* methanol extracts. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 278 012020
- Dolorosa MT, Nurjanah, Purwaningsih, Anwar E, Hidayat T. 2017. Kandungan senyawa bioaktif bubuk rumput laut *Sargassum plagyophyllum* dan *Eucheuma cottonii* sebagai bahan baku krim pencerah kulit. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 633-644.
- Donado-Pestana C M, Salgado, J M, de Oliveira Rios, A. dos Santos P R, Jablonski A. 2012. Stability of carotenoids, total phenolics and in vitro antioxidant capacity in the thermal processing of orange fleshed sweet potato (*Ipomoea batatas* Lam.) cultivars grown in Brazil. *Plant Foods Human Nutrition*. 67(3):262-270.
- Fiedor J, Burda K. 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 6: 466-488.
- Fraser P D, Bramley P M. 2004. The biosynthesis and nutritional uses of carotenoids. *Progress in Lipid Research*. 43(3):228-265.
- Garrote R L, Silva E R, Bertone R A, Roa, R D. 2004. Predicting the end point of a blanching process. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie-Food Science and Technology*. 37(3):309-315.
- Gayen D, Ali N, Sarkar S N, Datta S K, Datta K. 2015. Down-regulation of lipoxygenase gene reduces degradation of carotenoids of golden rice during storage. *Planta*. 242(1): 353-363.
- Gouveia, L. Empis J. 2003. Relative stabilities of microalgal carotenoids in microalgal extracts, biomass and fish feed: effect of storage conditions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 4 (2):227-233.
- Heo SJ, Ko SC, Kang SM, Kang HS, Kim JP, Kim SH, Lee KW, Cho MG, Jeon YJ. 2008. Cytoprotective effect of fucoxanthin isolated from brown algae *Sargassum siliquastrum* against H_2O_2 -induced cell damage. *European Food Research Technology*. 228:145-151.
- Heo S, Yoon W, Kim K, Oh C, Choi Y, Yoon K, Kang D, Qian Z, Choi I, Jung W. 2012. Anti-inflammatory effect of fucoxanthin derivatives Isolated from *Sargassum siliquastrum* in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 Macrophage. *Food and Chemical Toxicology*. 50(9):3336-3342.
- Heriyanto, Limantara L. 2010. Studi kandungan fukosantin dari lima jenis rumput laut coklat di perairan madura. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Tahunan VII pada Hasil Penelitian Perikanan dan Kelautan*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 24 Juli. Hlm1-8.
- Hidayat T, Nurjanah, Anwar E, Nurilmala M. 2018. Identifikasi dan karakterisasi rumput laut tropika (dari Kepulauan Seribu) sebagai bahan baku kosmetik. *Creative Research Journal*. 4(2):49-62
- Hii S, Choong P, Woo K, Wong C. 2010. Stability studies of fucoxanthin from *Sargassum binderi*. *Australian Journal of*

- Basic and Applied Sciences*. 4(10):4580-4584.
- Hosokawa M, Okada T, Mikami N, Konishi I, Miyashita K. 2009. Biofunctions of marine carotenoids. *Food Science and Biotechnology*. 18(1):1-11.
- Hunterlab Association Laboratory. 2008. *Hunter L, a, b Color Scale*. HunterLab, 8(9):1-4.
- Jaswir I, Tope AHT, Raus RA, Monsur HA, Ramli N. 2014. Study on anti-bacterial potentials of some Malaysian brown seaweeds. *Food Hydrocolloids*. 42 (2):275-279.
- Kartikaningsih H, Zaelanie K. 2014. Stabilitas fukosantin dari rumput laut coklat *Padina australis* terhadap perubahan suhu. *National Conference Green Technology*. 3:366-370.
- Kawee-ai A, Kuntiyab A, Kima S M. 2013. Anticholinesterase and antioxidant activities of fucoxanthin purified from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *Natural Product Communications*. 8(10):1381-1386.
- Kirke DA, Smyth TJ, Rai DK, Kenny O, Stengel, DB. 2017. The chemical and antioxidant stability of isolated low molecular weight phlorotannins. *Food Chemistry*. 221:1104-1112.
- Kuda T, Tsunekawa M, Hishi T, Araki Y. 2005. Antioxidant properties of dried kayamonori, a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae). *Food Chemistry*. 89(4):617-622.
- Lichtenthaler H, Buschmann. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*. 1(1):F4.31-4.38.
- Liu LH, Zabarar D, Bennett LE, Aguas P, Woonton BW. 2009. Effects of UV-C, red light and sun light on the carotenoid content and physical qualities of tomatoes during post-harvest storage. *Food Chemistry*. 115 (2): 495-500.
- Liu S, Zhu L, Zhang S. 2011. Study on drying technology of *Sargassum fusciforme*. *Advanced Materials Research*. 361-363:764-769.
- Luthfiyana N, Nurjanah, Nurilmala M, Anwar E, Hidayat T. 2016. Rasio bubur rumput laut *Euchema cottonii* dan *Sargassum* sp. sebagai formula krim tabir surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(3): 183-195
- Maeda H, Tsukui T, Sashima T, Hosokawa M, Miyashita K. 2008. Seaweed carotenoid, fucoxanthin, as a multi-functional nutrient. *Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition*. 17(S1):196-199.
- Magnusson M, Yuen AK, Zhang R, Wright JT, Taylor RB, Maschmeyer T, de Nys RA. 2017. Comparative assessment of microwave assisted (MAE) and conventional solid-liquid (SLE) techniques for the extraction of phloroglucinol from brown seaweed. *Algal Research*. 23:28-36.
- Maharany F, Nurjanah, Suwandi R, Anwar E, Hidayat T. 2017. Kandungan senyawa bioaktif rumput laut *Padina australis* dan *Euchema cottonii* sebagai bahan baku krim tabir surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Pengolahan Indonesia*. 20(1): 10-17.
- Mayer ME, Spiess WEL. 2003. Influence of cold storage and blanching on the carotenoid content of Kintoki Carrots. *Journal of Food Engineering*. 56(2-3):211-213.
- Mekinić IG, Skroza D, Šimat V, Hamed I, Čagalj M, Perković ZP. 2019. Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: extraction, identification, and quantification. *Biomolecules*. 9(6):244
- Milledge JJ, Nielsen BV, Bailey D. 2016. High-value products from macroalgae: the potential uses of the invasive brown seaweed, *Sargassum muticum*. *Review Environment Science Biotechnology*. 15: 67-88.
- Nomura M, Kamogawa H, Susanto E, Kawagoe C, Yasui H, Saga N, Hosokawa M, Miyashita K. 2013. Seasonal variations of total lipids, fatty acid composition, and fucoxanthin contents of *Sargassum horneri* (Turner) and *Cystoseira hakodatensis* (Yendo) from the northern seashore of Japan. *Journal of Applied Phycology*. 25:1159-1169.
- Nurjanah, Jacob MJ, Hidayat T, Chrystiawan R. 2018c. Perubahan komponen serat

- rumput laut *Caulerpa* sp. (dari Tual, Maluku) akibat proses perebusan. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan*. 10(1): 35-48.
- Nurjanah, Nurilmala M, Anwar E, Luthfiyana N, Hidayat T. 2017. Identification of bioactive compounds of seaweed *Sargassum* sp. and *Eucheuma cottonii* doty as a raw sunscreen cream. *Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences: B. Life and Environmental Sciences*. 54(4): 311-318.
- Nurjanah, Nurilmala N, Sudiarjo F, Hidayat T. 2016. Characteristics of seaweed as raw materials for cosmetics. *Aquatic Procedia*. 7:177 – 180
- O'Sullivan AM, O'Callaghan YC, O'Grady MN, Queguineur B, Hanniffy D, Troy DJ, Kerry JP, O'Brien NM. 2011. In vitro and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chemistry*. 126 (3):1064-1070.
- Park, PK, Kim EY, Chu KH. 2007. Chemical disruption of yeast cells for the isolation of carotenoid pigments. *Separation and Purification Technology*. 53 (2): 148-152.
- Priecina L, Karklina D, Kince T. 2018. The impact of steam-blanching and dehydration on phenolic, organic acid composition, and total carotenoids in celery roots. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 49:192-201
- Puspita M, Déniel M, Widowati I, Radjasa O K, Douzenel P, Marty C, Vandanjon L, Bedoux G, Bourgougnon N. 2017. Total phenolic content and biological activities of enzymatic extracts from *Sargassum muticum* (Yendo) Fensholt. *Journal of Applied Phycology*. 29:2521–2537.
- Rahmawaty A, Ma'ruf WF, Rianingsih L. 2014. Pengaruh penambahan oksidator dan reduktor terhadap degradasi ekstrak kasar pigmen fukosantin rumput laut *Sargassum duplicatum*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*. 3(4):77-81.
- Rattaya S, Benjakul S, Prodpran T. 2015. Extraction, antioxidative, and antimicrobial activities of brown seaweed extracts, *Turbinaria ornata* and *Sargassum polycystum*, grown in Thailand. *International Aquatic Resesarch*. 7:1–16.
- Susanto E, Fahmi AS, Agustini TW, Rosyadi S, Wardani AD. 2017 Effects of different heat processing on fucoxanthin, antioxidant activity and colour of indonesian brown seaweeds. *IOP Conference Series Earth Environmental Science*. 55 012063
- Susanto E, Fahmi AS, Abe M, Hosokawa M, Miyashita K. 2016. Lipids, fatty acids, and fucoxanthin content from temperate and tropical brown seaweeds. *Aquatic Procedia*. 7:66-75.
- Susanto E, Fahmi AS, Hosokawa M, Miyashita K. 2019. Variation in lipid components from 15 species of tropical and temperate seaweeds. *Marine Drugs*. 17(11):E630.
- Terasaki M, Hirose A, Narayan N, Baba Y, Kawagoe C, Yasui H, Saga N, Hosokawa M, Miyashita K. 2009. Evaluation of recoverable functional lipid components of several brown seaweeds (phaeophyta) from japan with special reference to fucoxanthin and fucosterol contents. *Journal of Phycology*. 45 (4): 974-980.
- Vinson J A, Su X, Zubik L, Bose P. 2001. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: fruits. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 49 (11):5315-5321.
- Wada L, Ou B. 2002. Antioxidant activity and phenolic content of oregon caneberries. *Journal Agricultural and Food Chemistry*. 50(12):3495–3500.
- Xiao Y, Huang W, Li D, Song J, Liu C, Wei Q, Zhang M, Yang Q. 2018. Thermal degradation kinetics of all-trans and cis-carotenoids in a light-induced model system. *Food Chemistry*. 239:360-368.
- Yilmaz B, Sahin K, Bilen H, Ibrahim H, Bahcecioglu, Bilir B, Ashraf S, Halazun K J, Kucuk O. 2015. Carotenoids and non-alcoholic fatty liver disease. *Hepatobiliary Surgery Nutrition*. 4(3):161–171.
- Yip W H, Joe L S, Mustapha W A W, Maskat M Y, Said M. 2014. Characterisation and stability of pigments extracted from *Sargassum binderi* obtained from Semporna. Sabah. *Sains Malaysiana*. 43(9):1345–1354.

- Zaragozá MC, López D, Sáiz MP, Poquet M, Pérez J, Puig-Parellada P, Mármol F, Simonetti P, Gardana C, Lerat Y, Burtin P, Inisan C, Rousseau I, Besnard M, Mitjavila MT. 2008. Toxicity and antioxidant activity in vitro and in vivo of two *Fucus vesiculosus* extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 56(17): 7773–7780.
- Zhang H, Tang Y, Zhang Y, Zhang S, Qu J, Wang X, Kong R, Han C, Liu Z. 2015. Fucoxanthin: a promising medicinal and nutritional ingredient. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2015:1-10.
- Zhao D, Daeung Y, Kim MJ, Gu MY, Kim S M, Pan CH, Kim GH, Chung DH. 2019. Effects of temperature, light, and pH on the stability of fucoxanthin in an oil-in-water emulsion. *Food Chemistry*. 291:87-93.

PENGARUH PERBEDAAN PRE-TREATMENT TERHADAP STABILITAS KAROTENOID DAN FENOL PADA EKSTRAK *Sargassum duplicatum* SELAMA PENYIMPANAN

ORIGINALITY REPORT

11%

SIMILARITY INDEX

9%

INTERNET SOURCES

7%

PUBLICATIONS

2%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	Dian ayunita Nugraheni nurmala Dewi. "TINGKAT KEPUASAN PESERTA LELANG TERHADAP PELAYANAN TEMPAT PELELANGAN IKAN (TPI) MORODEMAK", Akuatik: Jurnal Sumberdaya Perairan, 2019 Publication	1%
2	Submitted to Universitas Andalas Student Paper	1%
3	jpa.ub.ac.id Internet Source	1%
4	Submitted to Universitas Brawijaya Student Paper	<1%
5	digitalcommons.library.umaine.edu Internet Source	<1%
6	jurnal.upnyk.ac.id Internet Source	<1%
7	worldwidescience.org Internet Source	<1%

8

ojs.umrah.ac.id

Internet Source

<1 %

9

repository.ump.ac.id

Internet Source

<1 %

10

Ahmad Fadhil Muzaki, Wilis Ari Setyati, Subagiyo Subagiyo, Rini Pramesti. "AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK RUMPUT LAUT Halimeda macroloba DARI PANTAI TELUK AWUR, JEPARA, JAWA TENGAH", JURNAL ENGGANO, 2018

Publication

<1 %

11

Eko Susanto, A Suhaeli Fahmi, Tri Winarni Agustini, Septian Rosyadi, Ayunda Dita Wardani. "Effects of Different Heat Processing on Fucoxanthin, Antioxidant Activity and Colour of Indonesian Brown Seaweeds", IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2017

Publication

<1 %

12

Jian Li. "Use of UV-C Treatment to Inhibit the Microbial Growth and Maintain the Quality of Yali Pear", Journal of Food Science, 09/2010

Publication

<1 %

13

Nurjanah, R Suwandi, E Anwar, F Maharany, T Hidayat. " Characterization and formulation of sunscreen from seaweed and slurry ", IOP

<1 %

Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019

Publication

-
- | | | |
|----|---|------|
| 14 | modern-journals.com
Internet Source | <1 % |
|----|---|------|
-
- | | | |
|----|---|------|
| 15 | baadalsg.inflibnet.ac.in
Internet Source | <1 % |
|----|---|------|
-
- | | | |
|----|---|------|
| 16 | journal.ugm.ac.id
Internet Source | <1 % |
|----|---|------|
-
- | | | |
|----|---|------|
| 17 | journal.uta45jakarta.ac.id
Internet Source | <1 % |
|----|---|------|
-
- | | | |
|----|---|------|
| 18 | Amir Mugozin, Amir Husni. "Antioxidant Activity and Consumer Acceptance Level in Milk Enriched With Phlorotaninof Sargassumsp.", Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia, 2019
Publication | <1 % |
|----|---|------|
-
- | | | |
|----|--|------|
| 19 | Ria Lumbantobing, Mery Napitupulu, Minarni R. Jura. "Analysis of Cyanide Acid Content in Cassava (Manihot esculenta) Based on Storage Time", Jurnal Akademika Kimia, 2020
Publication | <1 % |
|----|--|------|
-
- | | | |
|----|---|------|
| 20 | downloads.hindawi.com
Internet Source | <1 % |
|----|---|------|
-
- | | | |
|----|---|------|
| 21 | majalah.farmasetika.com
Internet Source | <1 % |
|----|---|------|
-

22	unsri.portalgaruda.org Internet Source	<1 %
23	id.123dok.com Internet Source	<1 %
24	jurnalfkip.unram.ac.id Internet Source	<1 %
25	world-food.net Internet Source	<1 %
26	www.coursehero.com Internet Source	<1 %
27	Muhammad Nursid, Dedi Novienderi. "KANDUNGAN FUKOSANTIN DAN FENOLIK TOTAL PADA RUMPUT LAUT COKELAT <i>Padina australis</i> YANG DIKERINGKAN DENGAN SINAR MATAHARI", Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, 2017 Publication	<1 %
28	jhs.um.ac.ir Internet Source	<1 %
29	kb.psu.ac.th Internet Source	<1 %
30	research.library.mun.ca Internet Source	<1 %
31	Jia Yu, Jingyu Li, Qiaohan Wang, Yan Liu, Qingli Gong. "Growth and Resource Accumulation of	<1 %

Drifting Sargassum horneri (Fucales, Phaeophyta) in Response to Temperature and Nitrogen Supply", Journal of Ocean University of China, 2019

Publication

32

Jung, Hyun Ah, Md Yousof Ali, Ran Joo Choi, Hyong Oh Jeong, Hae Young Chung, and Jae Sue Choi. "Kinetics and molecular docking studies of fucosterol and fucoxanthin, BACE1 inhibitors from brown algae Undaria pinnatifida and Ecklonia stolonifera", Food and Chemical Toxicology, 2016.

Publication

<1 %

33

Sonia Mohamadnia, Omid Tavakoli, Mohammad Ali Faramarzi, Zahra Shamsollahi. "Production of fucoxanthin by the microalga Tisochrysis lutea: A review of recent developments", Aquaculture, 2020

Publication

<1 %

34

S. Rubiño, C. Peteiro, T. Aymerich, M. Hortós. "Major lipophilic pigments in Atlantic seaweeds as valuable food ingredients: analysis and assessment of quantification methods", Food Research International, 2022

Publication

<1 %

Exclude bibliography On

PENGARUH PERBEDAAN PRE-TREATMENT TERHADAP STABILITAS KAROTENOID DAN FENOL PADA EKSTRAK *Sargassum duplicatum* SELAMA PENYIMPANAN

GRADEMARK REPORT

FINAL GRADE

/0

GENERAL COMMENTS

Instructor

PAGE 1

PAGE 2

PAGE 3

PAGE 4

PAGE 5

PAGE 6

PAGE 7

PAGE 8

PAGE 9

PAGE 10

PAGE 11

PAGE 12