

PENGARUH PRAPERLAKUAN ALKALI DAN ASAM TERHADAP KARAKTERISTIK MUTU BAKTO AGAR DARI RUMPUT LAUT *Gelidium* sp.

The Effect of Alkali and Acid Pretreatment to the Quality of Bacto Agar from Gelidium sp.

Muhamad Darmawan^{1*}, Joko santoso², Dina Fransiska¹, dan Marsella²

¹Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Jl. KS Tubun, Petamburan VI, Slipi, Jakarta Pusat

²Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor, Jl. Darmaga, Bogor, Jawa Barat

*Korespondensi Penulis: m.darmawan22@gmail.com

Diterima: 31 Desember 2019; Direvisi: 27 Januari 2020; Disetujui: 31 Maret 2020

ABSTRAK

Ekstraksi bakto agar dari rumput laut merah *Gelidium* sp. asal Pameungpeuk, Jawa Barat dengan praperlakuan alkali dan asam telah diteliti. Pada praperlakuan alkali digunakan NaOH dengan variasi konsentrasi 4, 5, dan 6%. Asam yang digunakan yaitu CH₃COOH dengan variasi konsentrasi 0,5% dan 1,0%. Parameter mutu yang diamati meliputi kadar air, kadar abu, kadar abu tak larut asam, kadar sulfat, gugus fungsi, rendemen agar, kekuatan gel, viskositas, titik leleh dan titik jendal, sineresis, dan angka lempeng total. Bakto agar terbaik diperoleh dari praperlakuan dengan konsentrasi NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5% yang telah memenuhi beberapa persyaratan mutu bakto agar komersial untuk parameter kekuatan gel, kadar air, kadar abu, dan kadar abu tak larut asam. Karakteristik mutu dari praperlakuan tersebut adalah kadar air 13,69±1,02%, kadar abu 4,24±1,28%, kadar abu tak larut asam 0,54±0,25%, kadar sulfat 1,55±0,36%, rendemen 9,19±2,21%, kekuatan gel 1464,98±109,09 g/cm², viskositas 42,75±24,40%, sineresis 2,76±0,12%, titik jendal 20,50±2,12 °C, dan titik leleh 95,25±1,06 °C. Praperlakuan dengan konsentrasi tersebut juga memiliki nilai Angka Lempeng Total (ALT) yang sama dengan bakto agar komersial.

KATA KUNCI : bakto agar, *Gelidium* sp., praperlakuan alkali dan asam

ABSTRACT

Bacto agar extraction from red seaweed Gelidium sp. from Pameungpeuk, West Java with alkali and acid pretreatment had been conducted. NaOH with concentration of 4, 5, and 6% was used for alkali pretreatment while CH₃COOH at concentrations of 0.5% and 1.0% (v/v) was used for acid pretreatment. The quality parameters investigated were moisture content, ash content, acid insoluble ash, sulphate content, functional groups, yield, gel strength, viscosity, melting point, gelling point, syneresis, and total plate count. The best quality of bacto agar was obtained by using 4% alkali pretreatment and 0.5% CH₃COOH. This pretreatment has fulfilled the specification of commercial bacto agar for moisture, ash, acid insoluble ash content, and gel strength parameter. The properties of bacto agar from this pretreatment were moisture content 13.69±1.02%, ash content 4.24±1.28%, acid insoluble ash content 0.54±0.25%, sulphate content 1.55±0.36%, yield 9.19±2.21%, gel strength 1464.98±109.09 g/cm², syneresis 2.76±0.12%, gelling point 20.50±2.12 °C, and melting point 95.25±1.06 °C. This pretreatment also gave the same result as the commercial bacto agar for the total plate count.

KEYWORDS: bacto agar, *Gelidium* sp., alkaline and acid pretreatment

PENDAHULUAN

Rumput laut merah *Gelidium* sp. bernilai ekonomis karena memiliki kemampuan untuk menghasilkan agar (Abidin, Marcellino, & Sudjarwo, 2015). Agar terdapat di dalam matriks dan dinding sel rumput laut merah yang berasal dari famili Gelidiaceae dan

Glacilariaceae (Niu, Xu, Wang, Zhang, & Peng, 2013). Agar dapat dimanfaatkan sebagai media untuk mengembangbiakkan bakteri dan mikroba lainnya seperti kapang dan khamir. Agar juga merupakan standar media untuk penelitian mikrobiologi lebih dari seabad (Santika, Widodo, & Romadhon, 2014). Agar digunakan sebagai media pertumbuhan mikroba

karena memiliki kemampuan membentuk gel pada suhu 30-40 °C dan mampu mencair pada suhu 65-85 °C (Armisen & Galatas, 2009; Humm & Williams, 1948; Yarnpakdee Soottawat, & Passakorn, 2015). Kemampuan ini membuat agar lebih stabil untuk media pertumbuhan mikrobiologi jika dibandingkan dengan gelatin yang memiliki titik leleh yang rendah yaitu 25-30 °C (Armisen & Galatas, 2009). Produksi rumput laut merah yang menghasilkan agar di Indonesia cukup tinggi, namun Indonesia masih tergantung sepenuhnya pada impor untuk memenuhi kebutuhan bakto agar di dalam negeri (Murdinah, Fransiska, & Subaryono, 2008).

Gelidium sp. merupakan jenis rumput laut penghasil agar, rumput laut ini berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan baku pembuatan bakto agar. Pemanfaatan rumput laut *Gelidium* sp. di Indonesia masih sangat sedikit, sejauh ini rumput laut *Gelidium* sp. diekspor dalam bentuk rumput laut kering. Industri pengolahan agar dari *Gelidium* sp. di dalam negeri masih kalah jika dibandingkan dengan industri pengolahan agar dari rumput laut *Gracilaria* sp. (Murdinah et al., 2008), walaupun kekuatan gel agar yang dihasilkan dari *Gelidium* sp. lebih tinggi (Sousa, Alves, Morais, Matos, & Goncalves, 2010). Salah satu faktor penyebabnya adalah metode ekstraksi *Gelidium* sp. yang lebih sulit (Murdinah et al., 2008). Hal ini membuat perlu adanya metode ekstraksi agar yang sesuai untuk mendapatkan bakto agar dari *Gelidium* sp. Metode paling umum yang dilakukan untuk ekstraksi agar yaitu memanaskan rumput laut dalam air panas, menyaring, membekukan, dan melelehkan agar untuk menghilangkan air (Arvizu-Higuera et al., 2008).

Agar yang diekstrak dari *Gelidium rigidum* dengan menggunakan air selama 2 jam dalam autoklaf menghasilkan agar dengan kadar air 10,95%, kadar abu tak larut asam 0,18%, kadar sulfat 3,6%, dan kekuatan gel 670,72 g/cm² (Murdinah et al., 2008). Penelitian Subaryono & Murdinah (2011) menghasilkan agar dari *Gracilaria chilensis* dengan praperlakuan asam dengan rendemen 20,21%, kadar sulfat 1,77%, dan kekuatan gel 119,28 g/cm². Metode ekstraksi agar dengan praperlakuan asam memberikan nilai yang rendah pada kekuatan gel (Ramalingam, Kaliaperumal, & Kalimuthu, 2002). Beberapa spesies membutuhkan praperlakuan alkali untuk meningkatkan kekuatan gel dan memperbaiki kualitas agar (Al-Nahdi, Al-Alawi, Al-Marhobi, & Al-Zefiti, 2015). Praperlakuan alkali dengan NaOH menurut Santika et al. (2014) dapat meningkatkan kekuatan gel namun memiliki kelemahan yaitu rendahnya rendemen (Orduña-Rojas, et al., 2008) sehingga dibutuhkan perlakuan asam untuk meningkatkan rendemen (Distantina, Anggraeni, &

Fitri, 2008). Ekstraksi agar dengan praperlakuan NaOH dapat mereduksi kandungan sulfat dengan menghidrolisis 1-galaktosa-6-sulfat untuk menghasilkan 3,6-anhidrogalaktosa sehingga kekuatan gel yang diperoleh semakin tinggi (Orduña-Rojas et al., 2008). Kombinasi praperlakuan asam dan alkali menurut Ganesan dan Rao (2004) dapat meningkatkan rendemen agar dengan titik jendal dan titik leleh yang tinggi.

Hasil penelitian Distantina, Rusman, dan Hartati (2006) menunjukkan rendemen agar yang diekstrak menggunakan CH₃COOH lebih tinggi dibandingkan dengan HCl. Perlakuan asam menggunakan CH₃COOH lebih baik daripada penggunaan larutan HCl karena nilai rendemen agar yang dihasilkan lebih tinggi walaupun menggunakan konsentrasi yang lebih rendah (Distantina et al., 2006). CH₃COOH dalam proses ekstraksi agar berfungsi menarik agar ke luar dari dinding sel (Kusuma, Santosa, & Pramesti, 2013). Berdasarkan informasi tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang pengaruh praperlakuan NaOH dan CH₃COOH terhadap mutu bakto agar dari *Gelidium* sp. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari pengaruh praperlakuan NaOH dan CH₃COOH terhadap mutu bakto agar *Gelidium* sp. dengan konsentrasi berbeda dan membandingkannya dengan karakteristik mutu bakto agar komersial.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Rumput laut *Gelidium* sp. berasal dari daerah Pameungpeuk, Jawa Barat. Bahan kimia berupa NaOH (Merck), CH₃COOH (Merck), NaOCl (Merck), dan air digunakan dalam proses ekstraksi.

Metode

Pembuatan agar menggunakan metode yang dilakukan oleh Yarnpakdee et al. (2015) yang dimodifikasi. *Gelidium* sp. sebanyak 1 kg dicuci dan direndam dalam 10 L air selama 24 jam. Rumput laut dipanaskan dalam 10 L larutan NaOH dengan konsentrasi 4, 5, dan 6% pada suhu 85-90 °C selama 1,5 jam lalu dicuci dengan air. Rumput laut direndam dalam larutan CH₃COOH 10 L dengan konsentrasi 0,5% dan 1% selama 1 jam. Rumput laut kemudian dipucatkan dengan direndam dalam larutan 10 L NaOCl 4% selama 30 menit, kemudian dicuci hingga pH netral. Rumput laut diekstraksi selama 2 jam menggunakan air (1:10) pada suhu 80-90 °C, kemudian disaring dengan *vibrator screen* ukuran 100 mesh. Filtrat yang diperoleh dituang ke dalam pan dan diendapkan selama 12-24 jam pada suhu kamar. Gel yang dihasilkan kemudian disimpan di *cold*

storage selama 24 jam. Tahapan selanjutnya adalah pelelehan (*thawing*) gel agar dengan menggunakan air mengalir. Pengeringan agar dilakukan dengan bantuan sinar matahari. Proses selanjutnya adalah penepungan agar sehingga diperoleh bakto agar.

Kualitas mutu rumput laut yang digunakan dilihat dari parameter kadar *clean anhydrous weed* (CAW) (BSN, 2015a), *impurities* (BSN, 2015b), kadar air (BSN, 2015c). Bakto agar yang diperoleh dihitung rendemennya (Yousefi, Islami, & Filizadeh, 2013), kemudian diamati kualitasnya, yang meliputi kadar air (BSN, 2015c), kadar abu (BSN, 2010), kadar abu tak larut asam (BSN, 2010), kadar sulfat (Heydari, Nematollahi, Motamedzadegan, Hosseini-Parvar, & Hosseini, 2014), gugus fungsi (Czechowska-Biskup, Jarosińska, Rokita, Ulański, & Rosiak, 2012), kekuatan gel (Yousefi et al., 2013), viskositas (Praiboon, Chirapart, Akakabe, Bhumibhamon, & Kajiwara, 2006), titik leleh dan titik jendal (Rodríguez-Montesinos, Arvizu-Higuera, Hernández-Carmona, Muñoz-Ochoa, & Murillo-Álvarez, 2013), sineresis (Villanueva, Sousa, Gonçalves, Nilsson, & Hilliou, 2010), dan angka lempeng total (BSN, 2006a)

Rancangan percobaan pada penelitian ini adalah RAL faktorial dengan dua faktor yaitu NaOH dengan variasi konsentrasi 4, 5, dan 6% dan CH₃COOH dengan konsentrasi 0,5 dan 1,0%. Percobaan dilakukan masing-masing empat ulangan. Hasil pengamatan dianalisis dengan ANOVA menggunakan SPSS 21 dengan taraf signifikansi beda nyata ditentukan pada p<0,05. Uji lanjut yang digunakan dalam penelitian ini adalah uji wilayah berganda Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik mutu rumput laut *Gelidium* sp. yang digunakan dalam ekstraksi bakto agar meliputi kadar air, CAW, dan pengotor. *Clean Anhydrous Weed* (CAW) merupakan rumput laut kering yang telah bersih dari pengotor total seperti karang, rumput laut jenis lain, plastik, kerang, pasir, garam serta benda asing lainnya (BSN, 2015a). Pengotor adalah pengotor

seperti rumput laut lain, pasir, garam dan kotoran lainnya yang menempel pada rumput laut (Utomo & Satriyana 2006). Hasil karakteristik mutu rumput laut *Gelidium* sp. dapat dilihat pada Tabel 1.

Nilai kadar air *Gelidium* sp. lebih kecil dari standar SNI rumput laut kering yaitu sebesar 11,59% sehingga telah memenuhi standar SNI (BSN, 2015d). Kadar air rumput laut ini tidak jauh berbeda dengan nilai kadar air *Gelidium pusillum* yaitu sebesar 10,85% (Siddique, Khan, & Buiyan, 2013). Kadar air rumput laut memiliki keterkaitan dengan umur panen. Semakin tua umur panen rumput laut maka penyerapan air yang digunakan untuk proses sintesis polisakarida akan semakin banyak (Santika et al., 2014). Kadar CAW menunjukkan kebersihan rumput laut dari kotoran yang melekat seperti rumput laut lain, pasir dan karang (Utomo & Satriyana, 2006). Hasil pengukuran diperoleh CAW *Gelidium* sp. sebesar 40,02% dan telah memenuhi standar SNI. Dengan demikian, rumput laut *Gelidium* sp. memiliki kemurnian 40,02%, sedangkan sisanya adalah air dan pengotor lainnya seperti pasir, garam dan bahan lainnya yang menempel.

Nilai pengotor *Gelidium* sp. yang digunakan pada pembuatan bakto agar melebihi nilai standar SNI yaitu sebesar 15,63%. Pengotor pada rumput laut *Gelidium* sp. didominasi oleh pasir dan batu, tumbuhan lain, dan teritip. Tingginya nilai pengotor rumput laut disebabkan oleh penanganan rumput laut setelah dipanen. Rumput laut *Gelidium* sp. hasil pemanenan langsung dijemur di bawah sinar matahari tanpa melalui proses pencucian dengan menggunakan air tawar ataupun proses sortasi. Rumput laut kering dari jenis *Gelidium* memiliki kualitas yang rendah jika dibandingkan dengan *Glacilaria* sp. karena memiliki banyak pengotor dan banyaknya campuran dari rumput laut lain (Murdinah et al., 2008). Pengotor yang terdapat pada rumput laut dapat mempengaruhi kadar abu karena pengotor yang ada dapat ikut menjadi abu serta terukur sebagai kadar abu. Pengotor dapat dihilangkan dengan mengaduk rumput laut secara terus menerus pada proses pencucian dan mengulang pencucian hingga rumput laut bersih (Kumala, Sumarny, Racmani, & Ruswita, 2013).

Tabel 1. Karakteristik mutu rumput laut *Gelidium* sp.
Table 1. Quality characteristics of *Gelidium* sp.

Parameter/Parameters	Nilai/Value	Syarat Mutu/Quality requirement (BSN, 2015d)
Kadar air/Moisture content (%)	11.59±0.91	Maks.12/Max.12
CAW/Clean anhydrous weed (%)	40.02±5.75	Min. 40/Min. 40
Pengotor/Impurities (%)	15.63±2.48	Maks. 3/Max. 3

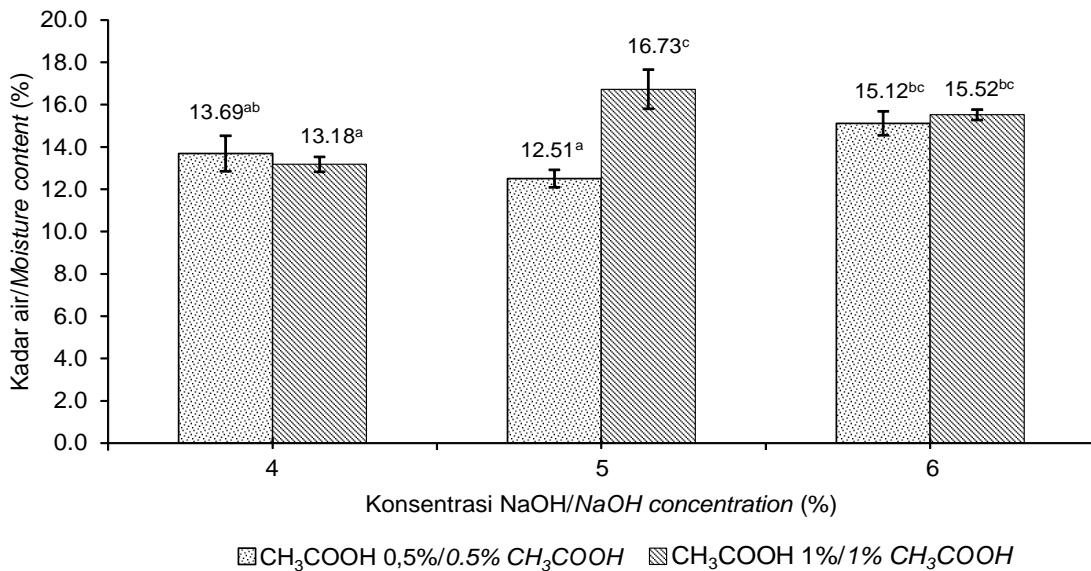
Karakteristik Bakto Agar

Kadar air

Kadar air adalah jumlah air tidak terikat yang terdapat dalam suatu produk (BSN, 2006b). Nilai kadar air bakto agar berkisar antara 12,51-16,73%. Analisis menunjukkan kadar air bakto agar dipengaruhi oleh praperlakuan NaOH, praperlakuan CH₃COOH, dan interaksi keduanya (p<0,05). Hasil analisis kadar air bakto agar dapat dilihat pada Gambar 1.

Kadar air bakto agar dengan praperlakuan NaOH 5% dan CH₃COOH 1% tidak berbeda nyata dengan praperlakuan NaOH 6% dan CH₃COOH 0,5% serta 1% namun berbeda nyata dengan praperlakuan lainnya. Kadar air bakto agar berkaitan dengan kadar

sulfat. Muatan negatif ester sulfat dapat berikatan dengan air sehingga jika kadar sulfat tinggi maka kadar air juga tinggi (Wenno, Thenu, & Lopulalan, 2012). Bakto agar dengan praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5 dan 1%, serta praperlakuan NaOH 5% dan CH₃COOH 0,5% masuk ke dalam spesifikasi mutu bakto agar *grade reguler*. Praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5% merupakan praperlakuan terpilih karena menghasilkan kadar air yang memenuhi syarat mutu bakto agar dan tidak berbeda nyata terhadap praperlakuan lainnya. Perbaikan teknik dalam proses ekstraksi agar khususnya pada tahapan pengeringan mampu mengurangi kadar air agar. Kadar air agar yang lebih kecil mampu diperoleh melalui proses ekstraksi agar dengan menggunakan oven pada tahapan pengeringan (Darmawan, Syamdidi, & Hastarini, 2006).



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

Gambar 1. Kadar air bakto agar
Figure 1. Moisture content of bacto agar

Tabel 2. Spesifikasi bakto agar komersial *Supreme Marine Chemical*
Table 2. Specification of commercial bacto agar *Supreme Marine Chemical*

Parameter/Parameters	Reguler/Reguler	Standar/Standard	Premium/Premium
Kadar air/Moisture content (%)	< 15.0	< 12.0	< 9.0
Kadar abu/Ash content (%)	< 4.5	< 4.0	< 1.0
Kadar abu tak larut asam/ Acid Insoluble ash content (%)	< 1.0	< 1.0	< 1.0
Kekuatan gel/Gel strength (g/cm ²)	400.0 – 500.0	500.0 – 650.0	> 650.0

Sumber/Source: Anon. (2004)

Kadar abu

Jumlah kandungan residu anorganik yang diperoleh dari proses pengabuan suatu produk disebut juga sebagai kadar abu (BSN, 2006c). Hasil analisis kadar abu bakto agar ditampilkan pada Gambar 2. Kadar abu bakto agar berkisar antara 4,22-6,92%, di mana praperlakuan NaOH dan CH₃COOH serta interaksi keduanya berpengaruh ($p < 0,05$) terhadap kadar abu bakto agar yang dihasilkan. Kadar abu bakto agar dengan praperlakuan NaOH 6% dan CH₃COOH 0,5% tidak berbeda nyata terhadap praperlakuan NaOH 5% dan CH₃COOH 0,5%, serta praperlakuan NaOH 6% dan CH₃COOH 1%, namun berbeda nyata terhadap praperlakuan lainnya. Dengan konsentrasi NaOH yang sama, konsentrasi CH₃COOH tidak berpengaruh terhadap kadar abu bakto agar.

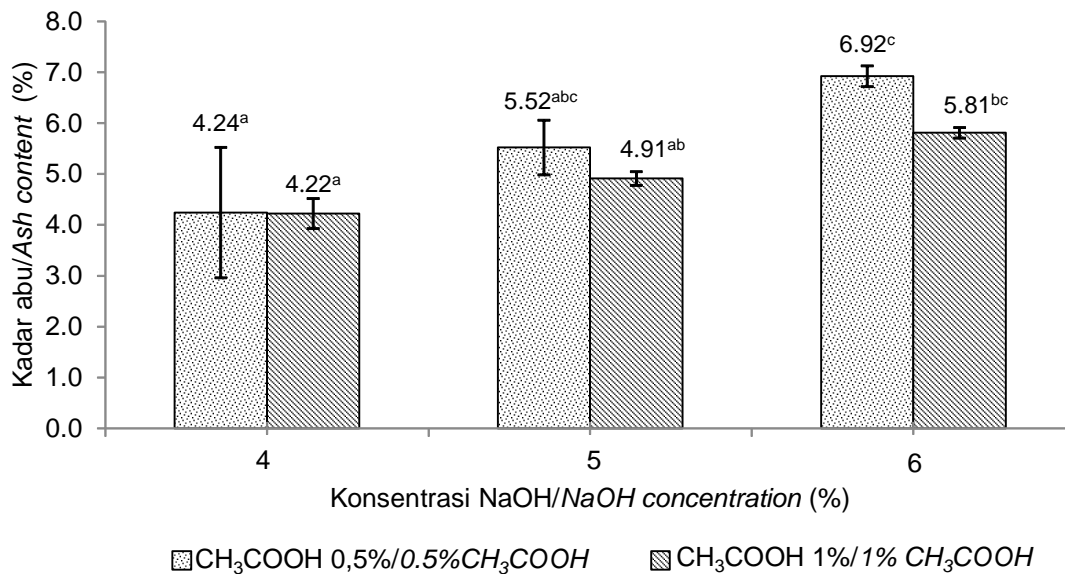
Untuk nilai kadar abu bakto agar, terjadi peningkatan nilai kadar abu seiring dengan peningkatan konsentrasi alkali dan asam yang digunakan. Hasil penelitian Kusuma et al. (2013) juga menunjukkan bahwa terjadi kenaikan kadar abu agar seiring dengan meningkatnya konsentrasi NaOH. Konsentrasi NaOH secara tidak langsung berperan dalam penentuan kadar abu. Kekuatan gel semakin tinggi dengan semakin tingginya konsentrasi NaOH yang digunakan (Santika et al., 2013), tingginya kekuatan gel akan membuat elemen mineral yang tersisa terperangkap dalam agar dan sulit untuk keluar (Kusuma et al., 2013).

Hasil analisis proksimat bakto agar yang dilakukan Efendi, Retno, dan Nursalam (2015) menghasilkan kadar abu agar *Gelidium* sebesar 2,17%. Spesifikasi mutu bakto agar komersial berdasarkan nilai kadar abunya adalah sebesar kurang dari 4,5% untuk *grade regular*, kurang dari 4% untuk *grade standard*, dan kurang dari 1% untuk *grade premium* (Anon. 2004). Kadar abu bakto agar yang diperoleh dengan praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5% serta 1% memenuhi standar mutu kadar abu bakto agar komersial. Bakto agar dengan konsentrasi NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5% menjadi perlakuan terpilih karena merupakan konsentrasi terendah dan masuk kedalam spesifikasi mutu bakto agar komersial *grade regular*. Kadar abu dipengaruhi oleh proses pencucian rumput laut yang masih menyisakan karang dan pasir (Salamah, Susanti, & Wikanta, 2005). Pengotor yang masih tersisa saat pencucian dapat terukur sebagai kadar abu dari agar (Kumala et al., 2013).

Kadar abu tak larut asam

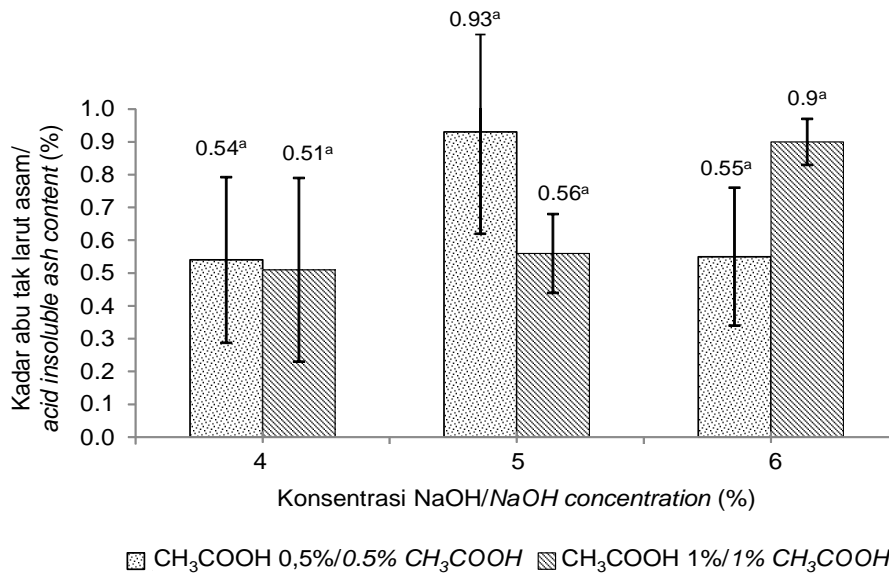
Hasil analisis kadar abu tak larut asam bakto agar ditampilkan pada Gambar 3, di mana nilainya berkisar antara 0,51-0,93%. Kadar abu tak larut asam bakto agar tidak dipengaruhi oleh praperlakuan NaOH, praperlakuan CH₃COOH, dan interaksi keduanya ($p > 0,05$).

Kadar abu tak larut asam bakto agar untuk *grade premium* di bawah 1% (Anon., 2004). Hal ini



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

Gambar 2. Kadar abu bakto agar
Figure 2. Ash content of bacto agar



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

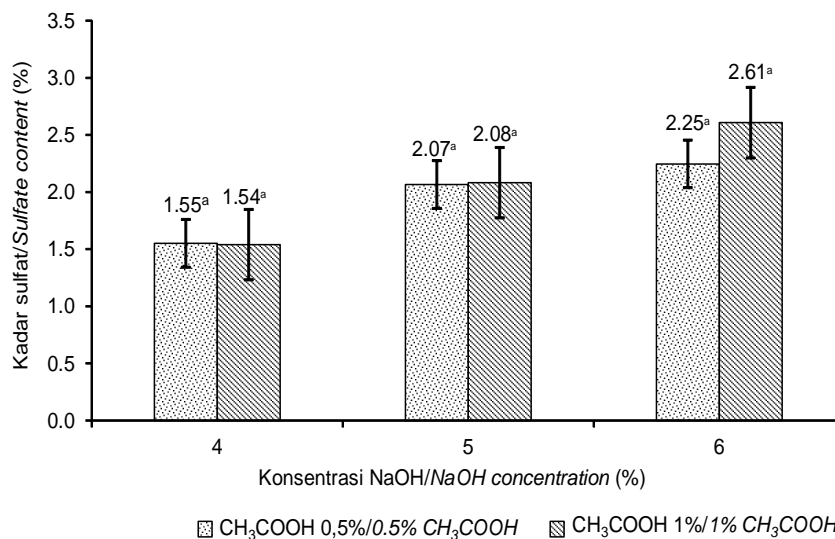
Gambar 3. Kadar abu tak larut asam bakto agar.
Figure 3. Acid insoluble ash content of bacto agar

menunjukkan bahwa bakto agar yang dihasilkan pada penelitian ini masuk ke dalam spesifikasi *grade premium*. Kadar abu tak larut asam pada bakto agar hasil penelitian Murdinah et al. (2008) sebesar 0,18-0,38%. Kadar abu tak larut asam yang diekstrak dengan menggunakan air berkisar antara 0,38-0,76%. Nilai kadar abu tak larut asam yang rendah menunjukkan bahwa kandungan logam berat pada

bakto agar yang dihasilkan tersebut juga rendah (Kumala et al., 2013).

Kadar sulfat

Nilai rata-rata kadar sulfat bakto agar berkisar antara 1,54-2,61%. Hasil analisis kadar sulfat bakto agar ditampilkan pada Gambar 4.



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/ The same letters indicate no significant difference.

Gambar 4. Kadar sulfat bakto agar.
Figure 4. Sulfate content of bacto agar

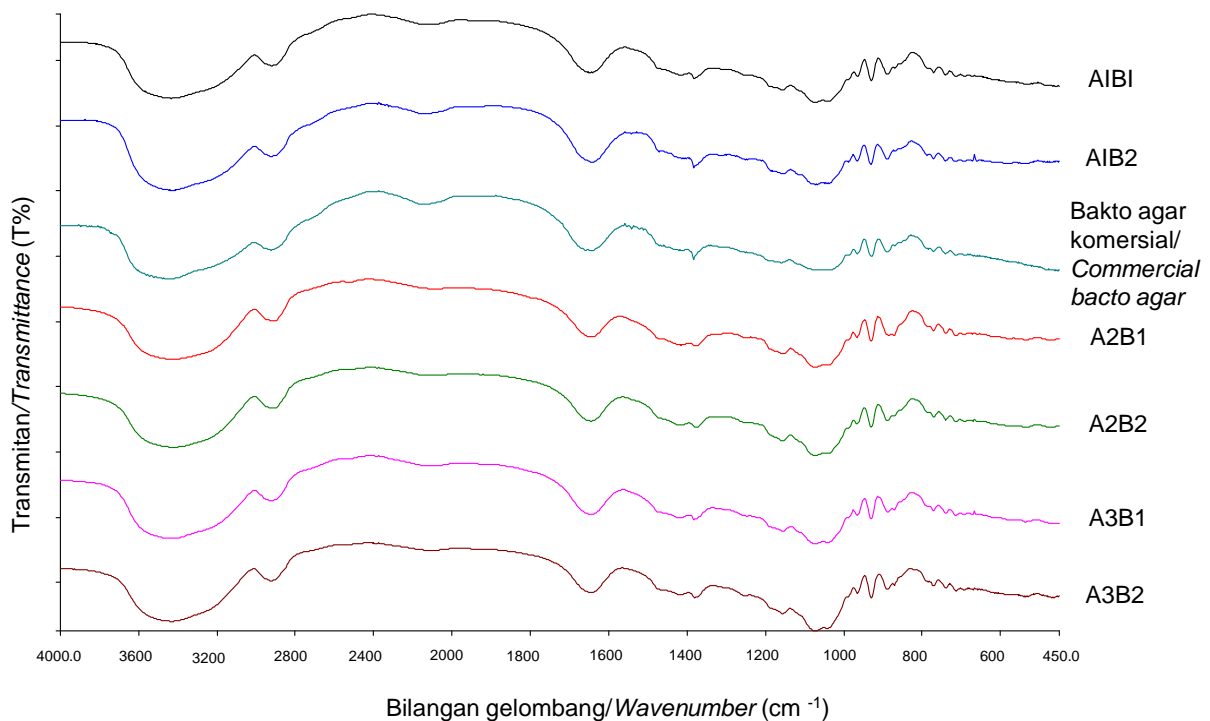
Hasil analisis menunjukkan kandungan sulfat bakto agar tidak dipengaruhi oleh praperlakuan NaOH, CH₃COOH, dan interaksi antara keduanya (p>0,05). Penelitian yang dilakukan oleh Fleire-Pelegrin dan Murano (2005) menunjukkan agar yang tidak diberi perlakuan alkali memiliki kadar sulfat yang tinggi yaitu sebesar 5,3% dan kandungan ester sulfat pada agar tetap stabil walaupun diberi perlakuan NaOH 7%. Kekuatan gel dari agar sangat dipengaruhi oleh kadar sulfat yang dimilikinya. Hal ini disebabkan sifat hidrofilik pada sulfat sehingga kadar sulfat dalam agar menurunkan nilai kekuatan gel dari agar tersebut (Santika et al., 2014). Agar dari rumput laut *Gracilaria edulis* yang diekstrak dengan praperlakuan NaOH 6% memiliki kadar sulfat 2,1% dan kekuatan gel 340 g/cm². Kadar sulfat bakto agar yang dilakukan oleh Chirapart, Munkit, dan Lewmanomont (2006) sebesar 1,54%, sehingga bakto agar yang diekstrak dengan

praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 1% memiliki nilai yang sama dengan kadar sulfat bakto agar tersebut.

Gugus fungsi

Hasil spektrum gugus fungsi bakto agar dapat dilihat pada Gambar 5 dan data spektrum gugus fungsi bakto agar disajikan pada Tabel 3.

Gugus fungsi yang diamati pada bakto agar yaitu CH₂, sulfat, 3,6 anhidro galaktosa, 1,3 β-D galaktosa piranosil, dan ikatan yang menunjukkan karakteristik agar. Hasil pengujian gugus fungsi bakto agar memperlihatkan keseluruhan sampel memiliki gugus senyawa kimia yang sama dengan bilangan gelombang yang tidak jauh berbeda dengan bakto agar komersial. Gugus CH₂ pada bakto agar terserap pada bilangan gelombang 2918,56 cm⁻¹ sampai 2926,95 cm⁻¹. Penelitian yang dilakukan oleh Guerrero,



Keterangan/Note:

Nilai Y axis untuk masing-masing spektrum digeser untuk memperlihatkan kemiripan struktur spektrum/Y axis value for each spectrum is shifted to show similarity in spectrum structure

A1B1: NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5%/4% NaOH and 0.5% CH₃COOH

A1B2: NaOH 4% dan CH₃COOH 1%/4% NaOH and 1% CH₃COOH

A2B1: NaOH 5% dan CH₃COOH 0,5%/5% NaOH and 0.5% CH₃COOH

A2B2: NaOH 5% dan CH₃COOH 1%/5% NaOH and 1% CH₃COOH

A3B1: NaOH 6% dan CH₃COOH 0,5%/6% NaOH and 0.5% CH₃COOH

A3B2: NaOH 6% dan CH₃COOH 1%/6% NaOH and 1% CH₃COOH

Gambar 5. Spektrum FT-IR bakto agar
Figure 5. Spectrum FT-IR of bacto agar

Tabel 3. Data spektrum FTIR bakto agar *Gelidium* sp.Table 3. Spectrum data of bacto agar of *Gelidium* sp.

Gugus senyawa kimia/ Chemical compound group	Perlakuan/Treatments						Bakto agar/ Bacto agar
	A1B1	A2B2	A2B1	A2B2	A3B1	A3B2	
- CH ₂	2925.15	2918.56	2921.25	2921.14	2923.05	2923.55	2926.95
Sulfat/ Sulfate	1383.75	1383.86	1378.53	1377.13	1382.94	1383.65	1384.05
3,6 AG/3.6 AG	931.85	931.95	931.43	931.33	931.44	931.15	930.46
1,3 β-D galaktosa piranosil/ 1,3 β-D galactose pyranosyl	891.05	871.17	872.24	871.94	871.95	871.95	885.50
Karakteristik ikatan agar/ Agar bond characteristic	772.90	771.86	771.96	771.84	772.15	772.50	772.40
	740.05	741.56	740.83	740.86	741.52	740.35	742.05
		717.80	714	714,94	715.51	714.56	717.90

Keterangan/Note :

A1B1: NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5%/4% NaOH and 0.5% CH₃COOH

A1B2: NaOH 4% dan CH₃COOH 1%/4% NaOH and 1% CH₃COOH

A2B1: NaOH 5% dan CH₃COOH 0,5%/5% NaOH and 0.5% CH₃COOH

A2B2: NaOH 5% dan CH₃COOH 1%/5% NaOH and 1% CH₃COOH

A3B1: NaOH 6% dan CH₃COOH 0,5%/6% NaOH and 0.5% CH₃COOH

A3B2: NaOH 6% dan CH₃COOH 1%/6% NaOH and 1% CH₃COOH

Etxabide, Leceta, Peñalba, dan de La Caba (2014) menunjukkan penyerapan ikatan CH₂ pada agar *Gelidium sesquipedale* terjadi pada bilangan gelombang 2932 cm⁻¹.

Ikatan sulfat bakto agar terserap pada bilangan gelombang 1377,13 cm⁻¹ sampai 1383,86 cm⁻¹. Bilangan gelombang 1370 cm⁻¹ dan 1243 cm⁻¹ menunjukkan adanya ikatan sulfat (Guerrero et al., 2014). Gugus kimia 1,3 β-D galaktosa piranosil bakto agar terserap pada bilangan gelombang 871,17 cm⁻¹ sampai 891,05 cm⁻¹. Ikatan β-D galaktosa piranosil agar terlihat pada penyerapan 891 cm⁻¹ (Guerrero et al., 2014; Gómez-Ordóñez & Rupérez, 2011). Gugus fungsi 3,6-anhidrogalaktosa ditandai pada bilangan gelombang 930 cm⁻¹ (Al-Nahdi et al., 2015). Spektrum pada range berkisar antara 700 cm⁻¹ dan 800 cm⁻¹ menunjukkan ikatan yang merupakan karakteristik agar (Gómez-Ordóñez & Rupérez, 2011).

Rendemen

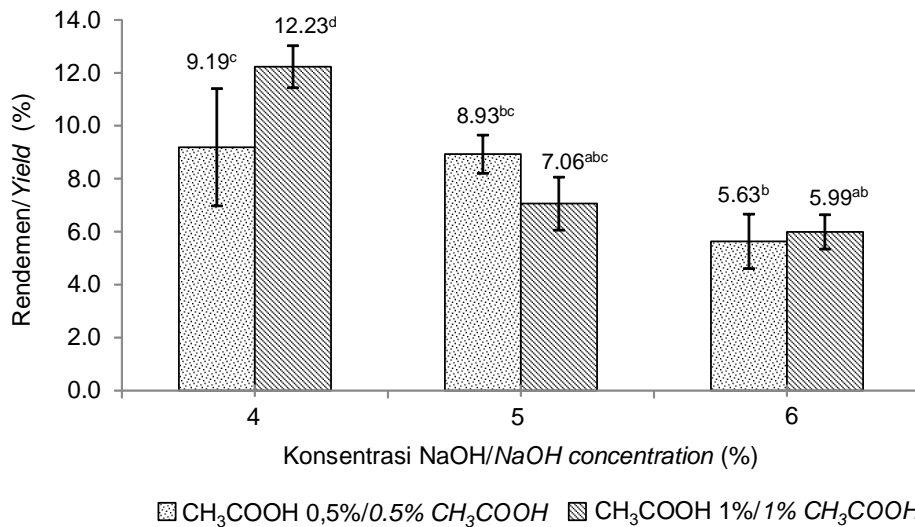
Rendemen dari bakto dihitung berdasarkan perbandingan berat bakto agar yang diperoleh terhadap berat kering rumput laut *Gelidium* sp. yang digunakan (Murdinah et al., 2008). Hasil analisis rendemen bakto agar disajikan pada Gambar 6.

Hasil analisis menunjukkan bahwa rendemen berkurang dengan peningkatan konsentrasi NaOH yang digunakan. Penelitian Meena, Prasad, Ganesan, dan Siddhanta (2008), Sahu dan Sahoo (2013) serta Yarnpakdee et al. (2015) memperlihatkan hasil yang sama yaitu nilai rendemen agar semakin turun seiring

dengan meningkatnya konsentrasi NaOH yang digunakan, hal ini disebabkan karena pada saat proses praperlakuan alkali berlangsung, agar akan ikut terekstrak dan terbuang pada saat proses pencucian rumput laut setelah tahapan praperlakuan alkali. (Darmawan et al., 2006). Praperlakuan NaOH 3% yang diikuti dengan praperlakuan asam sulfat memberikan nilai rendemen sebesar 13,3% (Orduna-Rojas et al., 2008). Penelitian yang dilakukan Rodríguez-Montesinos et al. (2013) menunjukkan agar *Gracilaria veleroae* yang diekstrak dengan praperlakuan NaOH 3% dan CH₃COOH 0,025% menghasilkan rendemen tertinggi sebesar 12,1%. Penggunaan suhu tinggi pada praperlakuan alkali (80-100 °C) dapat menurunkan rendemen agar (Fleire-Pelegrin et al., 2005) karena terjadi degradasi polisakarida (Praiboon et al., 2006).

Analisis menunjukkan rendemen bakto agar dipengaruhi oleh praperlakuan NaOH dan interaksi antara NaOH dan CH₃COOH (p<0,05). Rendemen bakto agar yang diekstrak dengan NaOH 4% dan CH₃COOH 1% berbeda nyata terhadap praperlakuan lainnya. Praperlakuan NaOH 3% yang diikuti dengan praperlakuan asam sulfat memberikan nilai rendemen sebesar 13,3% (Orduña-Rojas et al., 2008).

Penambahan NaOH dan CH₃COOH pada proses ekstraksi mempengaruhi nilai rendemen bakto agar. Penambahan NaOH pada proses ekstraksi agar memudahkan proses penarikan ekstrak agar pada saat ditambahkan bahan kimia yang bersifat asam. Hal ini dapat berpengaruh terhadap nilai rendemen



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

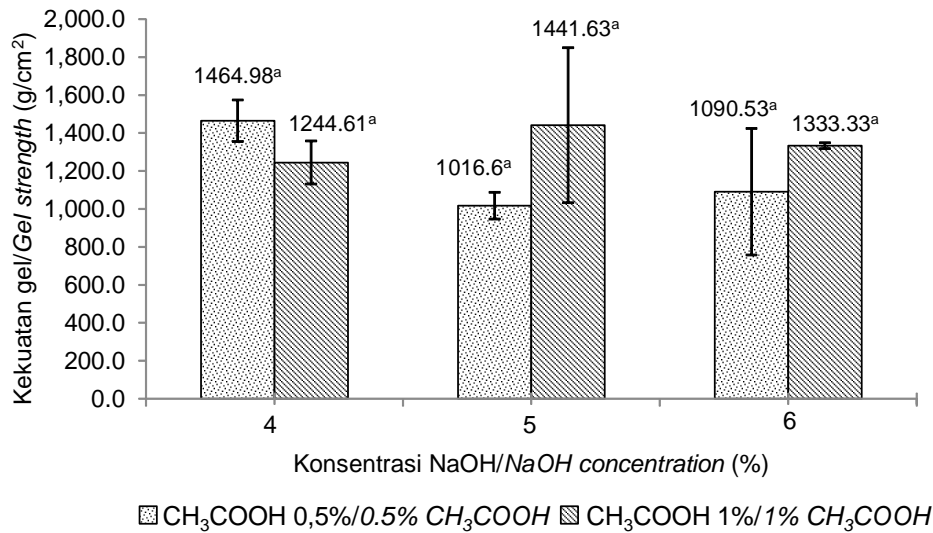
Gambar 6. Rendemen bakto agar.
Figure 6. Yield of bacto agar

yang didapatkan (Santika et al., 2014). Asam yang digunakan dalam proses praperlakuan dapat berupa asam lemah yang berfungsi untuk menetralkan residu alkali (McHugh, 2003). Penambahan CH₃COOH pada proses ekstraksi agar dapat meningkatkan rendemen agar. Penambahan CH₃COOH bertujuan untuk melunakkan serta memecah dinding sel rumput laut sehingga memudahkan proses difusi gel agar ke dalam pelarut (Distantina et al., 2008).

Kekuatan gel

Pada Gambar 7 ditampilkan kekuatan gel bakto agar hasil ekstraksi dari *Gellidium* sp. yang berkisar antara 1016,60-1464,98 g/cm².

Kekuatan gel bakto agar tidak dipengaruhi oleh praperlakuan NaOH dan CH₃COOH, dan interaksi antara keduanya (p>0,05). Penambahan alkali dalam proses ekstraksi dapat menyebabkan perubahan



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

Gambar 7. Kekuatan gel bakto agar.
Figure 7. Gel strength of bacto agar

kimia dalam agar (pembentukan 3,6-anhidro-galaktopiranos) yang dapat meningkatkan kekuatan gel (Knudsen, Marcel, & Anne, 2015). Proses pembentukan gel terjadi karena adanya interaksi antar struktur heliks. Tiga atom hydrogen yang terdapat pada residu 3,6 anhidro-l-galaktosa memaksa molekul yang ada membentuk struktur heliks (Murdinah, Apriani, Nurhayati, & Subaryono, 2012). Agar dengan praperlakuan NaOH 5% dan H₂SO₄ 0,025% memiliki nilai kekuatan gel sebesar 482 g/cm² (Yarnpakdee et al., 2015). Agar dari *Gracilaria corticata* yang diekstrak dengan NaOH 5% menghasilkan kekuatan gel tertinggi yaitu sebesar 634,2 g/cm² (Yousefi et al., 2013).

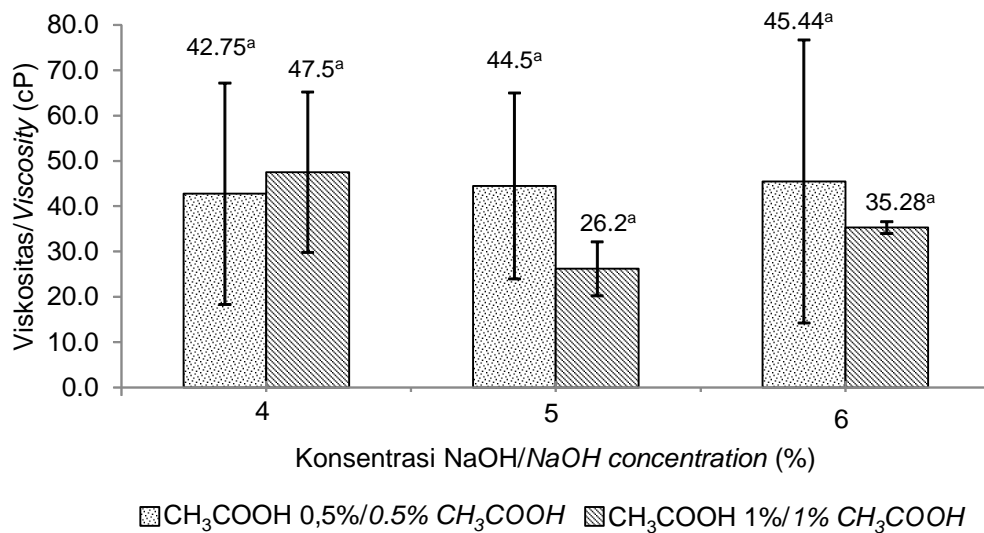
Spesifikasi mutu kekuatan gel bakto agar berdasarkan *Supreme Marine Chemical* untuk reguler grade sebesar 400-500 g/cm², standard grade 500 sampai 600 g/cm², dan premium grade di atas 600 g/cm² (Kumala et al., 2013). Bakto agar dengan konsentrasi NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5% merupakan konsentrasi terpilih karena menghasilkan nilai kekuatan gel yang tinggi dengan konsentrasi yang rendah. Nilai kekuatan gel bakto agar yang dihasilkan masuk ke dalam grade premium. Kekuatan gel dipengaruhi oleh kadar 3,6-anhidrogalaktosa, di mana semakin tinggi kadar 3,6-anhidrogalaktosa maka semakin tinggi kekuatan gel yang dihasilkan. Tingginya kadar sulfat yang dimiliki dapat menyebabkan semakin rendahnya kekuatan gel yang dihasilkan karena sulfat memiliki sifat yang hidrofilik sehingga dengan tingginya kadar sulfat yang terdapat dalam agar akan menyebabkan kekuatan gel agar

lebih rendah (Santika et al., 2014). Bakto agar dari *Gelidium rigidum* dengan kadar sulfat 3,6 sampai 3,98% memiliki kekuatan gel berkisar antara 115,8 sampai 670,72 g/cm² (Murdinah et al., 2008). Kadar sulfat bakto agar tersebut lebih tinggi dibandingkan dengan kadar sulfat bakto agar hasil penelitian ini, hal ini membuat kekuatan gel pada penelitian ini jauh lebih tinggi. Kekuatan gel dari agar dapat dipengaruhi oleh produksi polisakarida pada rumput laut yang sangat tergantung pada kondisi lingkungan budidaya rumput laut (Santika et al., 2014).

Viskositas

Hasil analisis viskositas bakto agar dapat dilihat pada Gambar 8, viskositas bakto agar yang diperoleh berkisar antara 26,2-47,5 cP.

Hasil analisis viskositas bakto agar menunjukkan praperlakuan NaOH, CH₃COOH, dan interaksi keduanya tidak berpengaruh (p>0,05) terhadap viskositas bakto agar. Bakto agar dengan praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5% merupakan konsentrasi terpilih sebab tidak berbeda nyata dengan konsentrasi lainnya dan merupakan konsentrasi terendah dengan nilai viskositas yang tinggi. *Gelidium sesquipedale* memiliki nilai viskositas sebesar 11,11 cP (Nil, Ali-Mehidi, Zella, & Abi-Ayad, 2016). Nilai viskositas agar yang diekstrak dari *Gracilaria verucosa* dengan praperlakuan NaOH pada konsentrasi berbeda berkisar antara 17,52-18,96 cP (Santika et al., 2014). Tingginya gaya gesek yang terdapat di dalam agar yang memiliki kekuatan gel



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

Gambar 8. Viskositas bakto agar
Figure 8. Viscosity of bakto agar

yang tinggi akan menyebabkan tingginya nilai viskositas yang dimiliki (Santika et al., 2014). Kekuatan gel bakto agar pada penelitian ini sangat tinggi sehingga viskositas yang dihasilkan juga tinggi.

Titik jendal

Titik jendal bakto agar berkisar antara 17,00-23,75 °C, hasil pengujian titik jendal bakto agar dapat dilihat pada Gambar 9.

Titik jendal bakto agar dipengaruhi oleh praperlakuan NaOH, praperlakuan CH₃COOH, dan interaksi antara keduanya (p<0,05). Titik jendal bakto agar yang diekstrak dengan praperlakuan NaOH 5% dan CH₃COOH 0,5% tidak berbeda nyata dengan praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 1%, namun berbeda nyata terhadap praperlakuan lainnya. Spesifikasi mutu titik jendal bakto agar berdasarkan *Supreme Marine Chemical* pada semua grade menunjukkan nilai 38 °C sampai 40 °C (Kumala et al., 2013). Bakto agar dengan konsentrasi NaOH 5% dan CH₃COOH 1% merupakan konsentrasi terpilih karena memiliki nilai yang tidak berbeda nyata terhadap NaOH 6% dan CH₃COOH 1% yang memiliki suhu yang lebih mendekati standar.

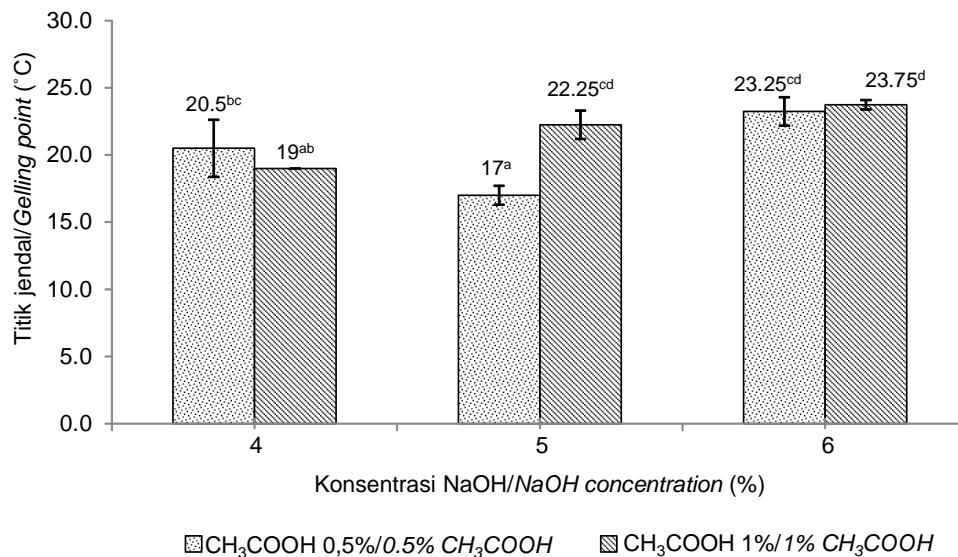
Agar dari *Glacilaria crassa* yang diekstrak dengan praperlakuan NaOH 8% memiliki titik jendal sebesar 35 °C (Meena et al., 2008). Agar yang memiliki titik jendal yang rendah dapat digunakan untuk aplikasi bakteriologis dan bioteknologi (Meena et al., 2008).

Rendahnya titik jendal bakto agar yang dihasilkan disebabkan oleh tingginya kadar sulfat. Konversi L-galaktosa-6-sulfat menjadi 3,6-anhidro-L-galaktosa meningkatkan kekuatan gel dan suhu transisi gel (Fleire-Pelegrin et al., 2005). Adanya ester sulfat pada atom karbon yang keenam dari L-galaktosa (C6) akan menghambat proses pembentukan gel bakto agar. Rantai polimer akan membentuk suatu tekukan akibat adanya ester sulfat tersebut (Murdinah et al., 2008).

Titik leleh

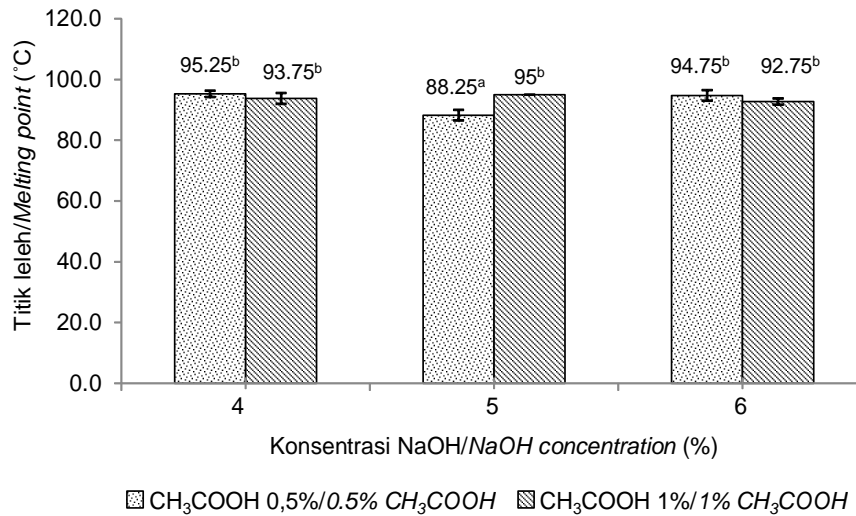
Hasil pengukuran titik leleh bakto agar ditampilkan pada Gambar 10, rata-rata titik leleh bakto agar yang diperoleh dari penelitian ini berkisar antara 88,25-95,00 °C.

Titik leleh bakto agar dipengaruhi oleh praperlakuan NaOH dan interaksi antara praperlakuan NaOH dan CH₃COOH (p<0,05). Titik leleh bakto agar yang diekstrak dengan praperlakuan NaOH 5% dan CH₃COOH 0,5% berbeda nyata terhadap praperlakuan lainnya sehingga menjadi praperlakuan terpilih. Bakto agar yang dihasilkan memiliki titik leleh yang lebih tinggi dibandingkan dengan bakto agar hasil penelitian Murdinah et al (2008) yaitu 67-77 °C dan standar *Supreme Marine Chemical* yaitu 78-80°C (Kumala et al., 2013). Titik leleh dan kekuatan gel pada agar yang diekstrak dengan alkali memiliki korelasi positif (Fleire-Pelegrin et al., 2005). Tingginya titik leleh mengindikasikan bahwa gel dari agar tersebut lebih



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

Gambar 9. Titik jendal bakto agar
Figure 9. Gelling point of bacto agar



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

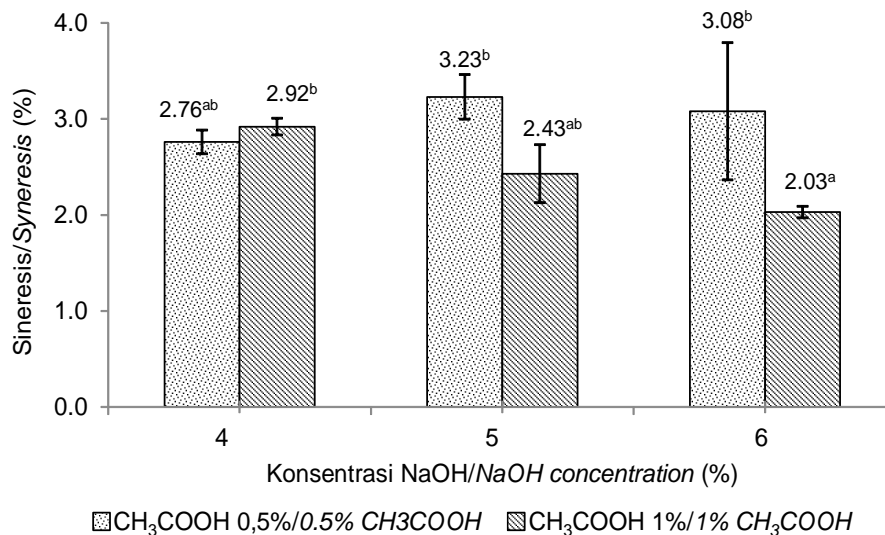
Gambar 10. Nilai titik leleh bakto agar
Figure 10. Melting point of bacto agar

stabil sebab membutuhkan energi yang besar untuk memecah jaringan agar (Yarnpakdee et al., 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Villanueva et al. (2010) menunjukkan titik leleh akan semakin meningkat seiring dengan tingginya konsentrasi alkali. Ekstrak agar dari *Gracilaria crassissima* memiliki titik leleh tertinggi yaitu sebesar 93 °C pada perlakuan NaOH 7% (Fleire-Pelegrin & Murano, 2005). Penelitian yang dilakukan oleh Ganesan dan Rao (2004) menunjukkan

praperlakuan alkali dan asam memberikan titik leleh yang tinggi pada *Gracilaria edulis* (82,5 °C).

Sineresis

Sineresis merupakan jumlah air yang hilang dari gel agar dan menunjukkan ketidakstabilan jaringan gel pada saat penyimpanan (Yarnpakdee et al., 2015). Nilai sineresis bakto agar dapat dilihat pada Gambar 11.



Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

Gambar 11. Persentase sineresis bakto agar
Figure 11. Syneresis percentage of bacto agar

Interaksi antara praperlakuan NaOH dan CH₃COOH memberikan pengaruh terhadap sineresis bakto agar ($p < 0,05$). Titik leleh bakto agar yang diekstrak dengan praperlakuan NaOH 6% dan CH₃COOH 1% tidak berbeda nyata terhadap praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5%, serta praperlakuan NaOH 5% dan CH₃COOH 1%, namun berbeda nyata dengan praperlakuan lainnya. Bakto agar dengan praperlakuan NaOH 5% dan CH₃COOH 1% merupakan praperlakuan terpilih sebab memiliki nilai lebih rendah dibandingkan dengan NaOH 6% dan CH₃COOH 1%. Nilai sineresis agar dengan praperlakuan NaOH dan H₂SO₄ berkisar antara 1,05 sampai 1,18% (Yarnpakdee et al., 2015).

Penelitian yang dilakukan Villanueva et al. (2010) menunjukkan agar yang tidak diberi perlakuan NaOH memiliki nilai sineresis lebih besar dibandingkan dengan agar yang diberi perlakuan NaOH. Nilai sineresis untuk agar tanpa perlakuan NaOH sebesar 16% sementara agar dengan perlakuan NaOH 5% sebesar 12,3%. Nilai ini lebih besar dibandingkan dengan indeks sineresis pada bakto agar yang dihasilkan. Sineresis agar berkaitan dengan kekuatan gel (Yarnpakdee et al., 2015) dan kadar sulfat (Lee, Namasivayam & Ho, 2014). Tingginya nilai sineresis mengindikasikan rendahnya kestabilan polimer gel agar saat penyimpanan (Lee et al., 2014).

Angka lempeng total

Pengujian mikrobiologi bertujuan untuk menguji kemampuan bakto agar setelah ditambah media pertumbuhan lainnya untuk menumbuhkan bakteri (Kumala et al., 2013). Pengujian mikrobiologi pada penelitian ini menggunakan bakto agar hasil ekstraksi dan bakto agar merek OXOID. Hasil pengujian

mikrobiologi berupa perhitungan ALT pada ikan segar dapat dilihat pada Tabel 3.

Hasil analisis ALT bakto agar menunjukkan praperlakuan NaOH, perlakuan CH₃COOH, serta interaksi keduanya tidak berpengaruh terhadap hasil ALT. Nilai ALT pada bakto agar hasil ekstraksi tidak jauh berbeda dengan nilai ALT pada bakto agar komersial, hal ini mengindikasikan bakto agar yang diekstrak dengan praperlakuan berbeda memiliki kemampuan menumbuhkan bakteri dengan nilai ALT yang tidak berbeda nyata dengan bakto agar komersial. Bakto agar dengan praperlakuan NaOH 4% dan CH₃COOH 0,5% merupakan praperlakuan terpilih sebab memiliki nilai ALT yang tidak berbeda dengan bakto agar komersial dan merupakan konsentrasi terendah. Standar jumlah koloni pada ikan segar yaitu 2×10^5 cfu/mL (BSN, 2006a) sehingga pengujian ALT pada ikan segar menggunakan bakto agar hasil ekstraksi telah memenuhi standar SNI. Pengujian ALT bakto agar *Gelidium rigidium* adalah $3,1 \times 10^9$ cfu/mL (Murdinah et al., 2008).

KESIMPULAN

Praperlakuan NaOH dan CH₃COOH dengan konsentrasi berbeda berpengaruh terhadap rendemen, kadar air, kadar abu, titik jendal, titik leleh, dan sineresis pada bakto agar yang dihasilkan. Hasil analisis ALT bakto agar menunjukkan praperlakuan NaOH, praperlakuan CH₃COOH, serta interaksi keduanya tidak berpengaruh terhadap hasil ALT dan memiliki kemampuan menumbuhkan bakteri dengan nilai ALT yang tidak jauh berbeda dengan bakto agar komersial. Perlakuan terbaik diperoleh dari praperlakuan dengan konsentrasi NaOH 4% dan

Tabel 4. Hasil perhitungan angka lempeng total pada ikan segar menggunakan bakto agar perlakuan
 Table 4. Total plate count for fresh fish using bacto agar treatment

Perlakuan/Treatment	Nilai ALT/Total Plate Count (cfu/mL)
NaOH 4% dan CH ₃ COOH 0,5%/4% NaOH and 0,5% CH ₃ COOH	1.9×10^{4a}
NaOH 4% dan CH ₃ COOH 1%/4% NaOH and 1% CH ₃ COOH	2.8×10^{4a}
NaOH 5% dan CH ₃ COOH 0,5%/5% NaOH and 0,5% CH ₃ COOH	3.8×10^{4a}
NaOH 5% dan CH ₃ COOH 1%/5% NaOH and 1% H ₃ COOH	2.2×10^{4a}
NaOH 6% dan CH ₃ COOH 0,5%/6% NaOH and 0,5% CH ₃ COOH	1.7×10^{4a}
NaOH 6% dan CH ₃ COOH 1%/6% NaOH and 1% CH ₃ COOH	2.7×10^{4a}
Bakto agar OXOID/Bacto agar OXOID	1.9×10^{4a}

Keterangan/Note: Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata/The same letters indicate no significant difference.

CH₃COOH 0,5% yang telah memenuhi beberapa spesifikasi bakto agar komersial untuk parameter kadar air, kadar abu, kadar abu tak larut asam dan kekuatan gel. Karakteristik mutu dari praperlakuan tersebut adalah kadar air 13,69±1,02%, kadar abu 4,24±1,28%, kadar abu tak larut asam 0,54±0,25%, kadar sulfat 1,55±0,36%, rendemen 9,19±2,21%, kekuatan gel 1464,98±109,09 g/cm², viskositas 42,75±24,40%, sineresis 2,76±0,12%, titik jendal 20,50±2,12 °C, dan titik leleh 95,25±1,06 °C. Praperlakuan dengan konsentrasi tersebut juga memiliki nilai ALT yang sama dengan bakto agar komersial.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., Marcellino, R., & Sudjarwo. (2015). Isolasi dan karakterisasi agarosa dari rumput laut *Gracilaria verrucosa*. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 13, 69-75.
- Al-Nahdi, Z. M., Al-Alawi, A., Al-Marhobi, I, & Al-Zefiti, A. (2015). Optimization of yield and chemical properties of agar extracted from *Melanothamnus somalensis* from Oman Sea. *Journal of Environmental Science and Engineering*, 4, 302-314.
- Anonymous. (2004). Supreme Marine Chemical. [Http://geocities.com/agar-agar/Supreme.html](http://geocities.com/agar-agar/Supreme.html).
- Armisen, R. & Galatas, F. 2009. *Agar*. In: Handbook of Hydrocolloids, Williams, P.A. And Phillips, G.O. (eds.). Woodhead Publishing. Cambridge , U.K.
- Arvizu-Higuera, D. L., Rodríguez-Montesinos, Y. E., Murillo-Álvarez, J. I., Muñoz-Ochoa, M., & Hernández-Carmona, G. (2008) Effect of alkali treatment time and extraction time on agar from *Gracilaria vermiculophylla*. *J. Appl. Phycol.*, 20, 515-519.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006a). *Cara Uji Mikrobiologi. SNI 01-2332.1-2006*. Jakarta (ID) : BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006b). *Cara uji kimia-Bagian 2: Penentuan kadar air pada produk perikanan. SNI 01-2354.2-2006*. Jakarta (ID). BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2006c). *Cara uji kimia-Bagian 1: Penentuan kadar abu pada produk perikanan. SNI 01-2354.1-2006*. Jakarta (ID). BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2010). *Penentuan Kadar Abu dan Abu Tak Larut Asam pada Produk Perikanan. SNI 2345.1:2010*. Jakarta (ID) : BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2015a). *Penentuan Clean Anhydrous Weed (CAW) pada Rumput Laut Kering. SNI 8168:2015*. Jakarta (ID) : BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2015b). *Penentuan impurities pada Rumput Laut. SNI 8169:2015*. Jakarta (ID) : BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2015c). *Penentuan Kadar Air pada Produk Perikanan. SNI 2345.2:2015*. Jakarta (ID) : BSN.
- Badan Standardisasi Nasional (BSN). (2015d). *Rumput Laut Kering. SNI 2690:2015*. Jakarta (ID) : BSN.
- Sousa, A. M. M., Alves, V. D., Morais, S., Matos, C. D., & Gonçalves, M. P. (2010). Agar extraction from integrated multitrophic aquacultured *Gracilaria vermiculophylla*: Evaluation of a microwave-assisted process using response surface methodology. *Bioresource Technology*, 101, 3258-3267.
- Chirapart, A., Munkit, J., & Lewmanomont, K. (2006). Changes in yield and quality of agar from the agarophytes, *Gracilaria fisheri* and *G. tenuistipitata* var. *liui* cultivated in Earthen Ponds. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 40, 529-540.
- Czechowska-Biskup, R., Jarosinska, D., Rokita, B., Ulanski, P., & Rosiak, J. M. (2012). Determination of degree of deacetylation of chitosan-comparison of methods. *Progress on Chemistry and Application of Citin*, 16, 5-20.
- Darmawan, M., Syamdidi, & Hastarini, E. (2006). Pengolahan bakto agar dari rumput laut merah (*Rhodymenia ciliata*) dengan praperlakuan alkali. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 1(1), 9-18.
- Distantina, S., Rusman, O., & Hartati, S. (2006). Pengaruh konsentrasi CH₃COOH pada perendaman terhadap kecepatan ekstraksi agar-agar. *Ekuilibrum*, 5(1), 34-39.
- Distantina, S., Anggraeni, D. R., & Fitri, L.E. (2008). Pengaruh konsentrasi dan jenis larutan perendaman terhadap kecepatan ekstraksi dan sifat gel agar-agar dari rumput laut *Gracilaria verrucosa*. *Jurnal Rekayasa Proses*, 2(1), 11-16.
- Efendi, F., Retno, H., & Nursalam. (2015). Searching for the best agarose candidate from genus *Gracilaria*, *Euclidean*, *Gelidium* and local brands. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(10), 865-869.
- Fleire-Pelegrin, Y., & Murano, E. (2005). Agars from three species of *Gracilaria* (Rhodophyta) from Yucatan Peninsula. *Bioresource Technology*, 96, 295-302.
- Ganesan, M., & Rao, P.V.S. (2004). Influence of post-harvest treatment on shelf life and agar quality in seaweeds *Gracilaria edulis* (Rhodophyta/Gigartinales) and *Gelidiella acerosa* (Rhodophyta/Gelidiales). *Indian Journal and Marina Sciences* 33(3), 269-275.
- Gómez-Ordóñez, E., & Rupérez, P. (2011). FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. *Food Hydrocolloids*, 25, 1514-1520.
- Guerrero, P., Etxabide, A., Leceta, I., Peñalba, M., & de La Caba, K. (2014). Extraction of agar from *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta) and surface characterization of agar based films. *Carbohydrate Polymers*, 99, 491- 498.
- Heydari, M., Nematollahi, M. A., Motamedzadegan, A., Hosseini-Parvar, S. H., & Hosseini, S. H. (2014). Optimization of the yield and quality of agar from *Gracilaria persica*. *Bulletin of Environmental Pharmacology Life Science*, 3 (3), 33-40
- Humm, T. J., & Williams, L. G. (1948). A study of agar from two Brazilian seaweed. *American Journal of Botany*, 35(5), 287-292.
- Knudsen, N. R., Marcel, T. A., & Anne, S. M. (2015). Seaweed hydrocolloid production: an update on enzyme assisted extraction and modification technologies. *Marine Drugs*, 13, 3340-3359.

- Kumala, S., Sumarny, R., Racmani, R., & Ruswita, A. (2013). Alga merah (*Gracilaria verrucosa*) sebagai bahan bakto agar. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 6(3), 167-171.
- Kusuma, W. I., Santosa, G. W., & Pramesti, R. (2013). Pengaruh konsentrasi NaOH yang berbeda terhadap mutu agar dari rumput laut *Gracilaria verrucosa*. *Journal of Marine Research*, 2(2), 120-129.
- Lee, W., Namasivayam, P., & Ho, C. (2014). Effects of sulfate starvation on agar polysaccharides of *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta) from Morib, Malaysia. *Journal of Applied Phycology*, 26, 1791-1799.
- McHugh, D.J. (2003). A Guide to The Seaweed Industry. Roma (IT) : FAO Fisheries Technical Paper 441. Hal 18.
- Meena, R., Prasad, K., Ganesan, M., & Siddhanta, A. K. (2008). Superior quality agar from *Gracilaria* species (Gracilariales, Rhodophyta) collected from the Gulf of Mannar, India. *Journal of Applied Phycology*, 20, 397-402.
- Murdinah, Fransiska, D., & Subaryono. (2008). Pembuatan bakto agar dari rumput laut *Gelidium rigidum* untuk media tumbuh bagi mikroorganisme. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 1(1), 79-88.
- Murdinah, Apriani, S. N. K., Nurhayati, & Subaryono. (2012). *Membuat Agar dari Rumput Laut Gracilaria sp.* Jakarta (ID), Penebar Swadaya.pp 23.
- Nil, S., Ali-Mehidi, S., Zellal, A., Abi-Ayad, S.M. (2016). Effects of season on the yield and quality of agar from *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyta) from Mostaganem, Algeria. *African Journal of Technology*, 15(10), 350-355.
- Niu, J., Xu, M., Wang, G., Zhang, K., & Peng, G. (2013). Comprehensive extraction of agar r-phycoerythrin from *Gracilaria lemaneiformis* (Bangiales, Rhodophyta). *Indian Journal of Geo-Marine Science*, 42(1), 21-28.
- Orduña-Rojas, J., Suárez-Castro, R., López-Álvarez, E. S., Ríosmena-Rodríguez, R., Pacheco-Ruiz, Zertuche-González, R., & Meling-López, A. E. (2008). Influence of alkali treatment on agar from *Gracilaria longissima* and *Gracilaria vermiculophylla* from the Gulf of California, Mexico. *Ciencias Marinas*, 34(4), 503-511.
- Praiboon, J., Chirapart, A., Akakabe, Y., Bhumibhamon, O., & Kajiwarra, T. (2006). Physical and chemical characterization of agar polysaccharides extracted from the Thai and Japanese species of *Gracilaria*. *Science Asia*, 32(1), 11-17.
- Ramalingam, J.R., Kaliaperumal, N., & Kalimuthu, S. (2002). Agar production from *Gracilaria* with improved qualities. *Seaweed Research and Utilization*, 24(1), 25-34.
- Rodríguez-Montesinos, Y. E., Arvizu-Higuera, D. L., Hernández-Carmona, G., Muñoz-Ochoa, M., & Murillo-Álvarez, J. I. (2013). Seasonal variation of the agar quality and chemical composition of *Gracilaria veleroae* and *Gracilaria vermiculophylla* (Rhodophyceae, Gracilariaceae) from Baja California Sur, Mexico. *Phycological Research*, 61,116-123.
- Sahu, N., & Sahoo, D. (2013). Study of morphology and agar contents in some important *Gracilaria* species of Indian Coasts. *American Journal of Plant Sciences*,4, 52-59.
- Salamah, E., Susanti, D., & Wikanta, T. (2005). Kualitas agarosa hasil isolasi dari *Rhodymenia ciliata* menggunakan deae-selulosa. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan*, 5(1), 13-20.
- Santika, L. G., Widodo, F. M., & Romadhon. (2014). Karakteristik agar rumput laut *Gracilaria verrucosa* budidaya tambak dengan perlakuan konsentrasi alkali pada umur panen yang berbeda. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 2(4), 98-105.
- Siddique, M.A.M., Khan, M. S. K., & Buiyan, M. K. A. (2013). Nutritional composition and amino acid profile of a subtropical red seaweed *Gelidium pusillum* collected from St. Martin's Island, Bangladesh. *International Food Research Journal*, 20(5), 2287-2292.
- Subaryono, & Murdinah. (2011). Kualitas agar-agar dari rumput laut *Gracilaria chilensis* yang dibudidayakan di Lampung [prosiding]. *Forum Inovasi Teknologi Akuakultur*, 1153-1158.
- Utomo, B. S. B., & Satriyana, N. (2006). Sifat fisiko-kimia agar-agar dari rumput laut *Gracilaria chilensis* yang diekstrak dengan jumlah air berbeda. *Jurnal Ilmu-Ilmu Perairan dan Perikanan Indonesia*, 13(1), 45-50.
- Villanueva, R. D., Sousa, A. M. M., Gonçalves, M. P., Nilsson, M., & Hilliou, L. (2010). Production and properties of agar from the invasive marine alga, *Gracilaria vermiculophylla* (Gracilariales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 22, 211-220.
- Wenno, M. R., Thenu, J. L., & Lopulalan, C. G. C. (2012). Karakteristik kappa karaginan dari *Kappaphycus alvarezii* pada berbagai umur panen. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Perikanan*, 7(1), 61-67.
- Yarnpakdee, S., Soottawat, B., & Passakorn, K. (2015). Physico-chemical and gel properties of agar from *Gracilaria tenuistipitata* from the lake of Songkhla, Thailand. *Food Hydrocolloids*, 51, 217-226.
- Yousefi, M. K., Islami, H. R., & Filizadeh, Y. 2013. Effect of extraction process on agar properties of *Gracilaria corticata* (Rhodophyta) collected from the Persian Gulf. *Phycologia*, 52(5), 1-7.