

## Optimasi Ekstraksi Fikobiliprotein Rumput Laut *Gracilaria salicornia* Sebagai Sumber Antioksidan Alami

### Optimization Of Phycobiliprotein Extraction Of Seaweed *Gracilaria salicornia* As A Source Of Natural Antioxidants

Ali Maksum<sup>1\*</sup>, Ike Sitoresmi Mulyo Purbowati<sup>1</sup>, Kunandar Prasetyo<sup>2</sup>, Hety Handayani Hidayat<sup>3</sup>, Furqon<sup>3</sup>, Riyan Anggriawan<sup>4</sup>, dan Rifani Ajeng Kartika Dewi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Pengolahan Pangan, Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal, Purwokerto, 53123, Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Agribisnis, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal, Purwokerto, 53123, Indonesia

<sup>3</sup>Program Studi Teknik Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman, Jl. Dr. Soeparno, Karangwangkal, Purwokerto, 53123, Indonesia

<sup>4</sup>Food Business Technology, School of Applied Science, Technology, Engineering and Mathematics (STEM), Prasetiya Mulya University, Tangerang 15339, Indonesia

\*Korespondensi penulis : ali.maksum@unsoed.ac.id

Diterima: 04 Oktober 2023; Direvisi: 09 Oktober 2024; Disetujui: 14 November 2024

#### ABSTRAK

Rumput laut berdasarkan pigmen warna dapat dikelompokkan menjadi tiga yaitu chlorophyta, phaeophyta dan rhodophyta. Rumput laut *Gracilaria Salicornia* merupakan golongan rhodophyta yang mengandung berbagai senyawa aktif seperti pigmen dan antioksidan. Salah satu senyawa bioaktif yang berpotensi menjadi sumber antioksidan alami adalah fikobiliprotein yang terkandung pada rumput laut *Gracilaria Salicornia*. Permasalahan yang dihadapi adalah belum optimalnya proses ekstraksi fikobiliprotein yang terkandung dalam rumput laut *Gracilaria Salicornia*. Tujuan penelitian ini adalah melakukan proses optimasi, mendapatkan formula optimum dan mendapatkan karakteristik fisikokimia hasil ekstraksi fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* dengan metode *Freeze Thaw* menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kondisi optimum ekstraksi diperoleh pada penambahan pelarut aquades 55,737 ml, lama *freezing* 172,114 menit dan lama *thawing* 90,120 menit. Hasil prediksi kadar fikobiliprotein berdasarkan proses optimasi sebesar 54,507 µg/ml, sedangkan hasil validasi diperoleh sebesar 49,794 µg/ml yang sesuai dengan rentang prediksi modelnya. Karakteristik ekstrak fikobiliprotein berdasarkan hasil validasi mengandung fikobiliprotein sebesar 49,794 µg/ml; kadar protein 46,67%; total fenol 465,76 µg GAE/g; aktivitas antioksidan 8,40%; warna L\* (20,20), a\* (-1,93), b\* (6,71).

**KATA KUNCI:** *Gracilaria salicornia*, Fikobiliprotein, Optimasi, RSM, Antioksidan

#### ABSTRACT

Seaweed based on color pigments can be grouped into three, namely chlorophyta, phaeophyta and rhodophyta. *Gracilaria Salicornia* seaweed is a group of rhodophyta that contains various active compounds such as pigments and antioxidants. One of the bioactive compounds that has the potential to be a source of natural antioxidants is phycobiliprotein contained in *Gracilaria salicornia* seaweed. The problem faced is the less than optimal extraction process of phycobiliprotein contained in *Gracilaria salicornia* seaweed. The purpose of this study was to carry out the optimization process, obtain the optimum formula and obtain the physicochemical characteristics of the extraction results of *Gracilaria salicornia* phycobiliprotein with the *Freeze Thaw* method using *Response Surface Methodology* (RSM). The results of this study indicate that the optimum extraction conditions were obtained by adding 55.737 ml of aquadest solvent, freezing time 172.114 minutes and thawing time 90.120 minutes. The predicted results of phycobiliprotein levels based on the optimization process were 54.507 µg/ml, while the validation results were 49.794 µg/ml which was in accordance with the model prediction range. The characteristics of the phycobiliprotein extract based on the validation results contained phycobiliprotein of 49.794 µg/ml; protein content 46.67%; total phenol 465.76 µg GAE/g; antioxidant activity 8.40%; color L\* (20.20), a\* (-1.93), b\* (6.71).

**KEYWORDS:** *Gracilaria salicornia*, Phycobiliprotein, Optimization, RSM, Antioxidant

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang sebagian besar wilayahnya adalah perairan, sehingga disebut dengan negara maritim. Luas wilayah Indonesia membentang dari luas laut territorial 284.210,9 km<sup>2</sup>, zona ekonomi eksklusif sebesar 2.981.211 km<sup>2</sup> dengan dibatasi oleh garis pantai sepanjang 95,18 km (Mulya, 2023). Keadaan geografis yang baik dan memiliki iklim tropis mendukung Indonesia memiliki keanekaragaman dan produktivitas biota laut yang tinggi (Jalaludin et al., 2020).

Menurut Loho et al.(2021), Indonesia memiliki kurang lebih 555 jenis dari 8.642 spesies rumput laut yang terdapat di dunia. Dengan melimpahnya sumber daya rumput laut, produksi rumput laut nasional pada tahun 2022 mencapai 9,6 juta ton (Nasrun et al., 2024). Rumput laut dari kelas alga merah menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis rumput laut di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis (Annisaqois et al., 2018).

Rumput laut merah merupakan jenis rumput laut yang banyak memiliki aktivitas biologi dibandingkan dengan jenis rumput laut lainnya (Amaranggana & Wathoni, 2017). *Gracilaria salicornia* merupakan salah satu jenis alga merah yang terdapat di wilayah Indonesia. Menurut Sanger et al. (2018) *Gracilaria salicornia* dapat dijadikan sumber pigmen alami dan antioksidan alami. Salah satu senyawa yang terkandung dalam alga merah yaitu fikobiliprotein.

Fikobiliprotein adalah pigmen protein yang larut dalam air yang berfungsi pada proses fotosintesis yang terdiri dari fikosianin, allofikosianin, dan fikokeritrin (Sulistiawati et al., 2023). Fikobiliprotein dalam bidang kesehatan dimanfaatkan sebagai fotosensitizer dan terapi penyakit kanker, sedangkan di bidang pangan dimanfaatkan sebagai pengawet makanan karena kandungan antioksidannya.

Untuk memanfaatkan fikobiliprotein dari rumput laut *G. Salicornia* secara efektif maka perlu dilakukan ekstraksi. Metode ekstraksi yang tepat untuk mendapatkan fikobiliprotein dari *G. salicornia* adalah metode *freezes thaw* karena karena menggunakan suhu rendah sehingga tidak merusak fikobiliprotein yang rentan terhadap suhu tinggi. Lama waktu ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, perbandingan bahan dan pelarut merupakan beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstraksi (Chairunnisa et al., 2019). Apabila semakin lama waktu *thawing* yang digunakan akan mempengaruhi stabilitas protein, sedangkan apabila semakin singkat waktu *thawing* masih terdapat kristal es pada sel sehingga proses

ekstraksi kurang maksimal (Mayasari et al., 2019). Oleh karena itu, optimasi menjadi hal yang sangat penting karena produk dapat sesuai dengan tujuan yang ingin dicapai.

*Response Surface Methodology* (RSM) merupakan metode yang digunakan untuk menentukan optimasi melalui korelasi antara variabel respon dan sekelompok variabel input. RSM memiliki efisiensi dalam segi waktu dan biaya untuk menjelaskan pengaruh dan interaksi variabel input dan variabel respon serta untuk mengevaluasi parameter kunci (Wahyono et al., 2018). RSM telah banyak digunakan dalam percobaan optimasi proses, seperti pada penelitian optimasi fenol dari fikokeritrin *Gracilaria Verucosa* dengan ekstraksi *Freeze Thaw* (Maksum et al., 2022) dan pada penelitian optimasi ekstraksi fikosianin dari mikroalga spirulina platensis menggunakan ultrasound Assisted Extraxtion (UEA) (Hadiyanto & Sutrisnorhadi, 2016).

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka didapatkan rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut, bagaimana titik optimum dari ketiga faktor ekstraksi menggunakan *freeze thaw* untuk mendapatkan ekstrak fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* dengan karakteristik terbaik. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui model optimasi ekstraksi fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* dengan metode *Freeze Thaw*, menentukan titik optimum serta karakterisasi hasil perlakuan optimum. Manfaat dari penelitian ini adalah hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk pengembangan teknologi pemanfaatan rumput laut *Gracilaria salicornia* berbasis potensi produksi rumput laut di Indonesia sebagai bahan antioksidan alami.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah rumput laut segar (basah) *Gracilaria salicornia* yang diperoleh dari pantai timur pulau nusa kambangan cilacap yang diangkut menggunakan *cool box*, akuades, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck), NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck), H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (Merck), HBO<sub>3</sub>, CuSO<sub>4</sub>, K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (Pudak), NaOH (Merck), metilen red (Merck), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (Sigma Aldrich), methanol pro analysis (Smatlab), ammonium fosfat 85% (Merck), HCl, Folin-Ciocalteu, dan Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sentrifus (Hettich), , spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu), timbangan analitik (Sartorius), timbangan digital (Camry), filler,

blender (Panasonic), freezer (Midea), aluminium foil, labu *kjedahl* (Pyrex), labu ukur (Herma), dan Color Reader CR-10.

**Metode**

Penelitian ini menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan percobaan *Central Composite Design* (CCD). Faktor yang diamati dalam penelitian ini tiga faktor

yakni lama *freeze*, lama *thawing*, dan penambahan pelarut aquades. Faktor yang diamati masing-masing dengan tiga taraf yakni: 1) *Freezing* selama 60, 120 dan 180 menit pada suhu -20°C, 2) *Thawing* selama 60, 120 dan 180 menit pada suhu ruang ±25 °C, 3) Penambahan pelarut aquades sebesar 25, 50 dan 75 ml (Maksum et al., 2022). Nilai batas atas dan bawah disajikan dalam Tabel 1 dan rekomendasi 20 perlakuan menurut *software Design Expert* versi 10 (*Stat-Ease*) disajikan pada Tabel 2.

Tabel 1. Nilai batas atas dan bawah faktor yang diamati

Table 1. Upper and lower limit values of observed factors

Faktor/ Factor	Unit/ Units	Batas Bawah/ Lower Limit	Batas Tengah/ Middle Limit	Batas Atas/ Upper Llimit
Freezing time	Menit/ Minutes	60	120	180
Thawing time	Menit/ Minutes	60	120	180
Penambahan pelarut/ Solvent addition	mL/mL	25	50	75

Tabel 2. Rekomendasi perlakuan berdasarkan *software Design Expert* versi 10

Table 2. Treatment recommendations based on Design Expert software version 10

Perlakuan/ Treatment	Faktor 1/Factor 1 A: Freezing time (Menit/Minutes)	Faktor 2/Factor 2 B: Thawing time (Menit/Minutes)	Faktor 3/Factor 3 C: Penambahan Pelarut/ Solvent Addition (mL)
1	180	60	75
2	120	19.092	50
3	120	120	50
4	180	180	25
5	120	220.908	50
6	220.908	120	50
7	180	180	75
8	120	120	92.045
9	120	120	7.955
10	180	60	25
11	120	120	50
12	120	120	50
13	120	120	50
14	120	120	50
15	60	180	25
16	19.092	120	50
17	60	60	75
18	120	120	50
19	60	60	25
20	60	180	75

Proses ekstraksi fikobiliprotein diawali dengan pencucian rumput laut *Gracilaria salicornia* dengan air mengalir, kemudian dilakukan pengecilan ukuran menggunakan blender selama 30 detik. Kemudian dilakukan penimbangan sebanyak 25 g rumput laut *Gracilaria salicornia* dan ditambahkan pelarut akuades sesuai dengan faktor yang diuji. Setelah itu dilakukan ekstraksi dengan metode *freezing thawing* selama faktor yang diuji sebanyak 5 siklus. Kemudian dilakukan pengendapan pigmen sampel menggunakan ammonium sulfat 85% yang dilakukan dengan cara 10 mL air ekstrak *Gracilaria salicornia* diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Kemudian 5 mL supernatan diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan ammonium sulfat 85% sebanyak 5 mL. Kemudian disentrifugasi kembali selama 10 menit dengan kecepatan 2000 rpm. Sampel dipresipitasi selama 4 jam pada suhu 4°C dalam keadaan gelap. Setelah itu disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Endapan protein yang terdapat dalam tabung reaksi diambil dan ditambahkan 12 mL buffer fosfat pH 7. Setelah itu, diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 540, 620, dan 650 nm. Kemudian dicatat hasil absorbansi dan dilakukan perhitungan kandungan fikobiliprotein (Maksum et al., 2022).

#### Variable pengukuran

Variabel pengukuran yang diamati pada penelitian adalah:

1. Analisis kandungan fikobiliprotein (fikoeritrin, fikosianin, dan alofikosianin) dilakukan dengan metode uji spektrofotometri (Mayasari et al., 2019)
2. Analisis kadar protein metode Kjeldahl (AOAC, 2005)
3. Analisis total fenol dilakukan dengan metode *Follin-Ciocalteu* (Sudaryat et al., 2016)
4. Analisis antioksidan metode DPPH (Purbowati et al., 2020)
5. Uji warna dilakukan dengan uji *Colour Reader* (Fadlilah et al., 2022)

#### Analisi data

Data yang diperoleh kemudian akan dianalisis menggunakan *software Design Expert* versi 10 dengan metode respon permukaan (*Response Surface Methodology*) dengan rancangan desain *Central Composite Design* (CCD) untuk dianalisis ANOVA masing-masing model. Selain itu terdapat pengujian *lack of fit* untuk mengetahui apakah ada atau tidaknya ketidakcocokan model terhadap kandungan fikobiliprotein yang dihasilkan. Setelah memperoleh model yang direkomendasikan, kemudian dilakukan analisis untuk memperoleh formula optimum yang menunjukkan kandungan fikobiliprotein yang optimum. Kemudian dilakukan verifikasi dan validasi perlakuan rekomendasi optimasi yang diulang sebanyak 3 kali.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Menentukan Model Persamaan Optimum Ekstraksi Fikobiliprotein

Berdasarkan hasil analisa *Design Expert* versi 10 diketahui model kubik menunjukkan nilai *p-value* lebih besar dari  $\alpha$  ( $0,6969 > 0,05$ ) sehingga dapat disimpulkan model kubik tidak terdapat *lack of fit* pada model, nilai  $R^2$  0,9579. Persamaan model matematika untuk optimasi ekstraksi Kandungan fikobiliprotein *Gracilaria salicornia*, *Freezing*, *Thawing*, dan penambahan pelarut adalah sebagai berikut :

$$(y)=58,92-7,92(A)+5,25(B)+11,47(C)+6,62(A B)+0,66(AC)-2,91(BC)-3,05(A^2)-0,11(B^2)-2,62(C^2 )+3,28(ABC)-10,45(A^2 B)-1,22(A^2 C)+18,25(AB^2) \dots\dots\dots(1)$$

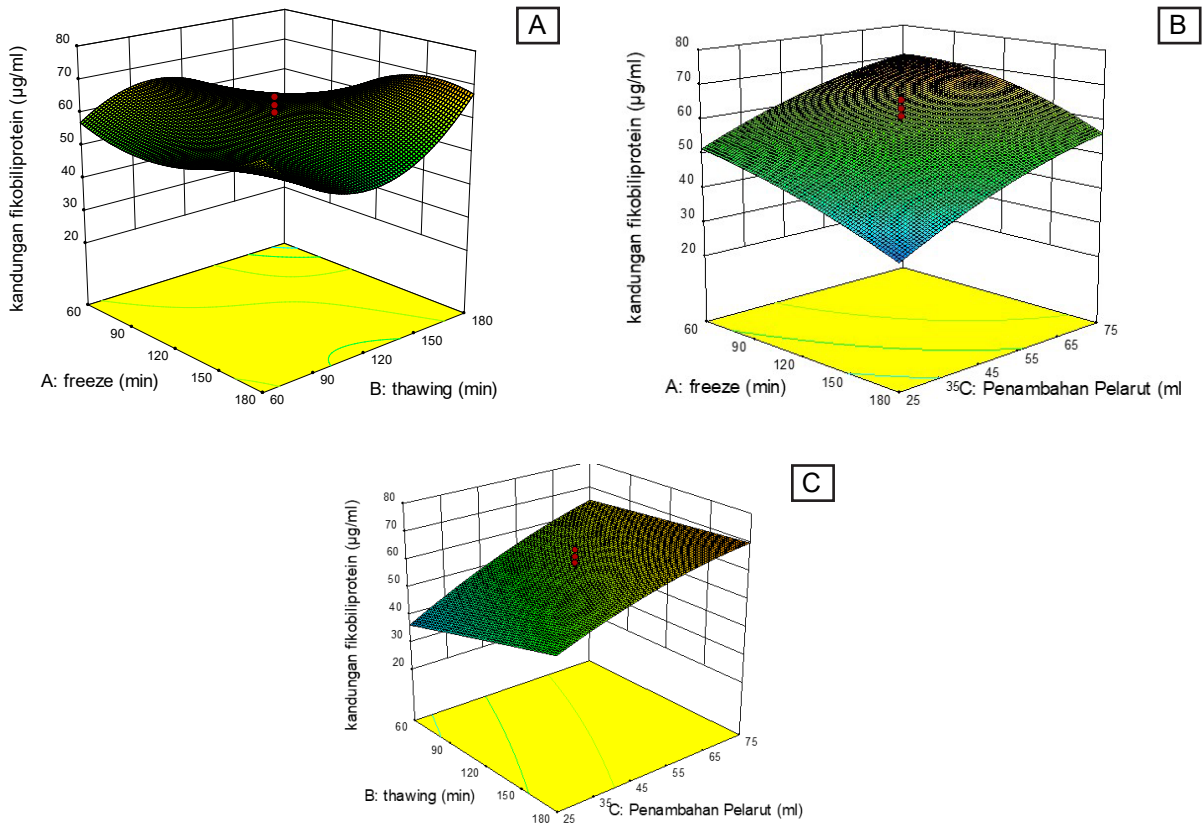
Keterangan:

A : *freezing*

B : *thawing*

C : Penambahan pelarut

Pengaruh dari faktor terhadap variabel respon kandungan fikobiliprotein yang dihasilkan dapat dilihat melalui grafik tiga dimensi yang terdapat dalam *software Design Expert* versi 10. Grafik tersebut dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik 3D model kubik antara faktor-faktor dengan respon kandungan fikobiliprotein. (A) Grafik 3D antara faktor *Freezing* dan *Thawing*. (B) Grafik 3D antara faktor *Freezing* dan penambahan pelarut. (C) Grafik 3D antara faktor *Thawing* dan penambahan pelarut.

Figure 1. 3D graph of the cubic model between factors and the response to phycobiliprotein content. (A) 3D graph between *Freezing* and *Thawing* factors. (B) 3D graph between the *Freezing* factor and the addition of solvent. (C) 3D graph between *Thawing* factor and solvent addition.

Pada Gambar 1 menunjukkan semakin lama *freezing*, semakin rendah kandungan fikobiliprotein. Sedangkan pada faktor *thawing* menunjukkan semakin lama *thawing*, semakin tinggi kandungan fikobiliprotein pada ekstrak *Gracilaria salicornia*. Hal ini dapat disebabkan apabila waktu *freezing* yang digunakan semakin lama maka kristal es yang terbentuk belum mengalami pencairan pada proses *thawing* yang sebentar sehingga pembebasan pigmen fikobiliprotein kurang maksimal. Apabila lama waktu *freezing* yang digunakan semakin lama maka kristal es yang terbentuk semakin besar dan semakin lama pada kondisi penyimpanan suhu rendah yang akan mempengaruhi stabilitas protein (Mayasari et al., 2019). Apabila semakin singkat waktu *freezing* yang digunakan maka belum terbentuk kristal-kristal es tajam sehingga proses ekstraksi kurang maksimal. Hal ini didukung pada penelitian Mayasari et al. (2019), bahwa pigmen

memiliki sifat yang tidak tahan pada kondisi penyimpanan suhu rendah (*freezer*). Sehingga apabila menggunakan waktu ekstraksi yang lebih lama dapat menurunkan stabilitas pigmen tersebut. Apabila lebih lama waktu *thawing* pada suhu ruang yang digunakan maka dapat meningkatkan hasil fikobiliprotein (Tan et al., 2020). Apabila lebih singkat waktu *thawing* masih terdapat kristal es pada sel sehingga proses ekstraksi kurang maksimal. Hal ini sesuai dengan Tan et al. (2020), lama pembekuan yang cukup diperlukan untuk membuat kristal es di dalam sel, sedangkan lama pencairan yang cukup diperlukan untuk memastikan sel benar-benar rusak untuk mendapatkan jumlah fikobiliprotein yang maksimal.

Perbandingan bahan dengan pelarut dapat menjadi salah satu faktor yang mempengaruhi hasil ekstraksi. Pada penelitian Maksum et al. (2022),



perbandingan berat bahan terhadap volume pelarut semakin besar maka kecepatan ekstraksi semakin besar. Hal tersebut dapat disebabkan penambahan pelarut yang semakin besar maka luas permukaan perpindahan massa antara padatan dengan larutan semakin besar. Perbandingan bahan dan pelarut menentukan kecepatan ekstraksi yang terjadi, apabila semakin kecil penambahan pelarut maka kemungkinan terjadi kontak tumbukan antara bahan dengan pelarut kurang efektif. Sedangkan apabila semakin besar penambahan pelarut, komponen bahan yang terekstrak akan semakin meningkat hingga larutan menjadi jenuh, namun setelah melewati titik jenuh maka tidak akan terjadi peningkatan hasil ekstraksi (Handayani et al., 2016). Hal ini sesuai dengan Gambar 1 ditunjukkan bahwa semakin besar penambahan pelarut kandungan fikobiliprotein yang dihasilkan semakin tinggi diiringi dengan semakin lama proses *thawing* saat ekstraksi.

#### Penentuan Kondisi Optimum, Verifikasi, Dan Validasi

Tabel 3 menunjukkan lama *freezing*, lama *thawing*, dan penambahan pelarut serta prediksi kandungan fikobiliprotein yang direkomendasikan oleh *software Design Expert* versi 10. Formula optimum yang dipilih adalah formula yang memiliki keterangan *selected*. Hal tersebut dikarenakan

formula memiliki nilai *desirability* sebesar 1. Menurut Daud et al. (2018), penentuan formula optimum dipilih berdasarkan nilai *desirability* terbesar, yang memiliki arti terdapat kedekatan antara hasil uji formula dengan nilai yang diharapkan. *Desirability* memiliki kisaran nilai sebesar 0-1, semakin mendekati satu semakin tinggi kemungkinan mendapatkan nilai respon yang diinginkan.

Formula optimum tersebut digunakan kembali untuk ekstraksi fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* sebanyak tiga kali ulangan dan dilakukan analisis kandungan fikobiliprotein untuk memverifikasi serta memvalidasi model yang optimum tersebut. Berdasarkan Tabel 4 menunjukkan bahwa kandungan fikobiliprotein dari hasil ekstraksi menurut model hasil optimasi dengan RSM adalah sebesar 41,118; 50,014; dan 58,249 µg/ml. Rata-rata ketiga data tersebut adalah sebesar 49,794 µg/ml. Nilai kandungan fikobiliprotein sudah sesuai dengan hasil prediksi *software Design Expert* versi 10 dan juga berada dalam *correction interval* (interval koreksi) yang ditentukan oleh *software Design Expert* versi 10 yaitu antara 48,2322 µg/ml hingga 60,7823 µg/ml. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa formula optimum sudah terverifikasi dan valid karena sesuai dengan data yang telah diprediksi oleh *software Design Expert* versi 10.

Tabel 3. Prediksi formula optimum dari *software Design Expert* versi 10

Table 3. Prediction of the optimum formula from Design Expert version 10 software

No	Freezing (Menit/Minutes)	Thawing (Menit/Minutes)	Penambahan Pelarut/ Solvent Addition (mL)	Kandungan Fikobiliprotein/ Phycobiliprotein Content (µg/ml)	Desirability	
1	172,114	90,12	55,737	54,507	1	<b>selected</b>

Sumber/Source: Design Expert versi 10

Tabel 4. Hasil kandungan Fikobiliprotein ekstraksi optimum hasil optimasi dengan RSM dibandingkan nilai interval koreksi yang diperoleh.

Table 4. Results of optimum extraction Phycobiliprotein content from optimization with RSM compared to the correction interval values obtained

Nilai Aktual Fikobiliprotein*/ Phycobiliprotein Actual Value*	Nilai Prediksi**/ Predicted Value**	95% Interval Koreksi**/ 95% Correction Interval**	
		Rendah/Low	Tinggi/High
49.794	54.507	48.232	60.782

Sumber/Source: \*Data olah, 2023. \*\*Design Expert versi 10.

### Karakteristik Produk Optimum

Hasil analisis ekstraksi fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* berdasarkan ekstraksi optimum hasil optimasi dengan RSM disajikan pada Tabel 5 yang menunjukkan bahwa nilai kandungan fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* perlakuan optimum sebesar 49,794 µg/ml yang terdiri dari nilai fikosianin sebesar 7,299 µg/ml; fikoeritrin sebesar 18,629 µg/ml; dan alofikosianin sebesar 23,866 µg/ml. Pada Penelitian Mayasari et al. (2019), kandungan fikobiliprotein dari *Kappaphycus alvarezii* sebesar 167 µg/ml dengan menggunakan metode ekstraksi *freeze thaw* lebih besar dibandingkan dengan penelitian ini. Hal tersebut dapat disebabkan karena perbedaan bahan yang digunakan. *Kappaphycus alvarezii* memiliki visualisasi pigmen fikobiliprotein berwarna merah muda terang dan agak gelap, semakin gelap warnanya maka fikobiliprotein yang terkandung semakin tinggi. Sedangkan pada penelitian ini *Gracilaria salicornia* pigmen fikobiliprotein berwarna merah muda kekuningan.

Pada Tabel 5 juga terlihat bahwa hasil kadar protein dari ekstrak fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* sebesar 46,67%. Pada penelitian Mujizat et al. (2013), *Gracilaria salicornia* memiliki kandungan protein sebesar 11,21%. Hal ini dapat disebabkan perbedaan metode ekstraksi yang digunakan. Pada penelitian Mujizat et al. (2013) menggunakan metode hidrolisis dengan autoklaf pada suhu 121°C. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan metode *freeze thaw*, dimana ekstraksi dilakukan pada kondisi suhu rendah yang cukup. Sehingga dapat meminimalisir terjadinya perubahan struktur (denaturasi) pada protein, dimana protein dapat terdenaturasi dengan penyimpanan suhu tinggi.

Tabel 5 tersebut juga menunjukkan bahwa hasil total fenol dari ekstrak fikobiliprotein *Gracilaria*

*salicornia* sebesar 465,76 µg GAE/g. Pada penelitian Sanger et al. (2018), hasil analisis total fenol dari ekstrak aseton *Gracilaria salicornia* sebesar 72,244 ± 6,01 µg GAE/g. Hal ini dapat disebabkan oleh penggunaan perbandingan bahan dengan pelarut. Pada penelitian Sanger et al. (2018), proses ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut aseton dan etanol serta perbandingan bahan dengan pelarut 1:10. Sedangkan pada penelitian ini menggunakan penambahan pelarut sebesar 55,737 ml. Semakin banyak penambahan pelarut yang digunakan maka semakin besar kemampuan pelarut untuk melakukan kontak dengan bahan sehingga komponen bahan yang terekstrak akan semakin banyak namun setelah melewati titik jenuh larutan, maka tidak terjadi peningkatan hasil ekstraksi (Handayani et al., 2016).

Pada Tabel 5 yang sama, hasil analisis aktivitas antioksidan dari ekstrak fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* sebesar 8,40% inhibisi. Menurut Rahmawati et al. (2017), potensi antioksidan untuk menangkap radikal bebas dapat ditentukan dengan metode perendaman radikal bebas DPPH. Aktivitas peredaman radikal bebas biasanya dinyatakan dengan persen inhibisi dari DPPH. Selain itu dapat dinyatakan juga sebagai konsentrasi yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH (IC<sub>50</sub>). Pada penelitian Julyasih (2009), ditunjukkan rumput laut *Gracilaria sp.* memiliki kemampuan menangkap radikal bebas sebesar 9,67%; proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol serta perbandingan bahan dengan pelarut 1:3 menghasilkan kandungan total fenol sebesar 0,8970%; lebih kecil dibandingkan total fenol pada penelitian ini. Hal tersebut dapat disebabkan oleh perbedaan jenis senyawa bioaktif yang terekstrak dengan jenis pelarut yang digunakan pada masing-masing penelitian. Selain itu juga dapat disebabkan

Tabel 5. Hasil analisis ekstraksi fikobiliprotein *Gracilaria salicornia*.

Table 5. Results of analysis of *Gracilaria salicornia* phycobiliprotein extraction.

Karakteristik/Characteristics	Hasil/Results
Kandungan fikobiliprotein/Phycobiliprotein content	49.794 µg/ml
Kadar protein/Protein content	46.67%
Total fenol/Total phenol	465.76 µg GAE/g
Aktivitas antioksidan/Antioxidant activity	8.40%
	L* : 20.20
Warna/Color	a* : -1.93
	b* : 6.71

Sumber/Source: Data olah (2023).

oleh perbandingan bahan dengan pelarut. Pada penelitian ini menggunakan metode *freeze thaw* dengan penambahan pelarut sebesar 55,737 ml.

Berdasarkan Hasil uji warna pada ekstrak fikobiliprotein menunjukkan nilai tingkat kecerahan (L) sebesar 20,20. Hal ini menunjukkan hasil ekstraksi fikobiliprotein memiliki tingkat kecerahan yang terang. Nilai a merupakan parameter yang menunjukkan tingkat kemerahan dari warna hijau sampai merah. Nilai kisaran tingkat kemerahan yaitu -100 sampai +100. Semakin besar nilai tingkat kemerahan (a) maka menunjukkan kecenderungan warna yang semakin merah. Pada Tabel 5 ditunjukkan nilai tingkat kemerahan (a) dari ekstraksi fikobiliprotein *Gracilaria salicornia* sebesar -1,93. Nilai b merupakan parameter yang menunjukkan tingkat kekuningan dari warna biru sampai kuning. Nilai kisaran tingkat kekuningan yaitu nilai -100 sampai +100. Pada Tabel 5 ditunjukkan nilai tingkat kekuningan (b) sebesar 6,71. Pada penelitian Tello-Ireland et al. (2011), *Gracilaria chilensis* segar memiliki nilai L\* sebesar 11,68; a\* 2,28; dan b\* 2,85. Hasil yang diperoleh pada penelitian ini memiliki nilai kecerahan (L\*) yang lebih tinggi. Hal ini dapat disebabkan kandungan fikoeiritrin dan fikosianin yang terkandung. *Gracilaria chilensis* memiliki kandungan fikoeiritrin sebesar 0,549 mg/g dan fikosianin sebesar 0,249 mg/g yang lebih tinggi dibandingkan dengan kandungan fikoeiritrin dan fikosianin pada penelitian ini. Selain itu, penggunaan metode ekstraksi *freeze thaw* dapat menjaga kestabilan pada warna, penampakan, dan meminimalisasi kerusakan akibat suhu tinggi (Rahmawati et al., 2017).

## KESIMPULAN

Proses ekstraksi optimal fikobiliprotein pada *Gracilaria Salicornia* dengan metode *Freeze Thaw* yaitu penambahan pelarut aquades 55,737 ml, lama *freezing* 172,114 menit dan lama *thawing* 90,120 menit mampu menghasilkan fikobiliprotein sebesar 49,794 µg/ml. Karakteristik ekstrak fikobiliprotein berdasarkan hasil optimasi ekstraksi adalah kadar protein 46,67%; total fenol 465,76 µg GAE/g; aktivitas antioksidan 8,40%; warna L\* (20,20), a\* (-1,93), b\* (6,71).

## UCAPAN TERIMA KASIH

Kami haturkan terimakasih kepada LPPM Unsoed yang telah mendanai penelitian ini melalui skim Riset Dosen Pemula BLU 2023.

## DAFTAR PUSTAKA

- Amaranggana, L., & Wathoni, N. (2017). Manfaat Alga Merah (Rhodopyta) sebagai Sumber Obat dari Bahan Alam. *Majalah Farmasetika*, 2(1), 16–19.
- Annisaqois, M., Gerung, G., Wullur, S., Sumilat, D., Wagey, B., & Mandagi, S. (2018). Analisis molekuler DNA alga merah (Rhodophyta) *Kappaphycus* sp. *Jurnal Pesisir Dan Laut Tropis*, 6(1), 107. <https://doi.org/10.35800/jplt.6.1.2018.20589>
- AOAC (Association of Official Analytical of Chemist). (2005). Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist (AOAC). In *Official Methods of Analysis of AOAC International*. Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical Chemist, inc.
- Chairunnisa, S., Wartini, N. M., & Suhendra, L. (2019). Pengaruh Suhu dan Waktu Maserasi terhadap Karakteristik Ekstrak Daun Bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai Sumber Saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 551. <https://doi.org/10.24843/jrma.2019.v07.i04.p07>
- Daud, N. S., Musdalipah, & Idayati. (2018). Optimasi Formula Lotion Tabir Surya Ekstrak Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) Menggunakan Metode Desain D-Optimal. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 5(2), 72–77.
- Fadlilah, A., Rosyidi, D., & Susilo, A. (2022). Karakteristik warna L\* a\* b\* dan tekstur dendeng daging kelinci yang difermentasi dengan *Lactobacillus plantarum*. *Wahana Peternakan*, 6(1), 30–37. <https://doi.org/10.37090/jwputb.v6i1.533>
- Hadiyanto, H., & Sutrisnorhadi, S. (2016). Response Surface Optimization of Ultrasound Assisted Extraction (UAE) of Phycocyanin from Microalgae *Spirulina platensis*. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 28(4), 227–234. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-05-193>
- Handayani, H., Sriherfyna, F. H., & Yunianta. (2016). Ekstraksi antioksidan daun sirsak metode ultrasonic bath (kajian rasio bahan: Pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 4(1), 262–272.
- Jalaludin, M., Octaviyani, I. N., Putri, A. N. P., Octaviyani, W., & Aldiansyah, I. (2020). Padang lamun sebagai ekosistem penunjang kehidupan biota laut di pulau pramuka, kepulauan seribu, indonesia. *Jurnal Geografi Gea*, 20(1), 44–53. <https://doi.org/10.17509/gea.v20i1.22749.g11823>
- Julyasih, K. S. M., Wirawan, I. G. P., & Harijani, W. S. (2009). Aktivitas antioksidan beberapa jenis rumput laut (*seaweeds*) komersial di bali. *Akselerasi Pengembangan Teknologi Pertanian dalam Mendukung Revitalisasi Pertanian*, 1–8.
- Loho, R. E. M., Tiho, M., & Assa, Y. A. (2021). Kandungan dan Aktivitas Antioksidan pada Rumput Laut Merah. *Medical Scope Journal*, 3(1), 113. <https://doi.org/10.35790/msj.v3i1.34986>
- Maksum, A., Purbowati, I. S. M., Wijonarko, G., & Anggriawan, R. (2022). Optimization of Phenol Levels



- from Phycoerythrin of *Gracilaria verrucosa* with Freeze Thaw using Response Surface Methodology. *Journal of Agricultural and Biosystem Engineering Research*, 3(1), 87. <https://doi.org/10.20884/1.jaber.2022.3.1.6547>
- Mayasari, N. R., Karseno, K., & Setyawati, R. (2019). Identifikasi Pigmen Fikobiliprotein Pada *Kappaphycus Alvarezii* Dalam Pelarut Buffer Fosfat Dengan Metode Freeze Thaw Cycle. *Jurnal Mitra Kesehatan*, 1(2), 87–94. <https://doi.org/10.47522/jmk.v1i2.17>
- Mujizat, K., Prariono, T., & Kusuma, A. (2013). *Effect of Acid Concentration on Hydrolysis Efficiency on Caulerpa racemosa, Sargassum crassifolium and Gracilaria salicornia*. 8, 127–134.
- Mulya, A. F. (2023). Penerapan Sanksi Peneggelaman Kapal Asing di Indonesia Menurut UNCLOS 1982. *UNJA Journal of Legal Studies*, 1(1), Article 1.
- Nasrun, M., Bijaksana, A. M. A., & Fatmawaty, A. S. (2024). Teknik Budidaya Rumput Laut dengan Metode Rawai. *JNSTA Adpertisi Journal*, 4(1), Article 1. <https://doi.org/10.62728/jnsta.v4i1.515>
- Purbowati, I. S. M., Karseno, & Maksum, A. (2020). Acidity level control formulation of roselle tea functional drinks based on variations in the addition of flower petals and sugar type. *Food Research*, 4(3), 772–779. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.4\(3\).343](https://doi.org/10.26656/fr.2017.4(3).343)
- Rahmawati, S. I., Hidayatulloh, S., & Suprayatmi, M. (2017). Antioksidan extraction of phycocyanin from spirulina plantesis for biopigment and antioxidant. *Jurnal Pertanian*, 8(1), 36–45.
- Sanger, G., Kaseger, B. E., Rarung, L. K., & Damongilala, L. (2018). Potensi beberapa Jenis Rumput Laut sebagai Bahan Pangan Fungsional, Sumber Pigmen dan Antioksidan Alami. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(2), 208. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i2.22841>
- Sudaryat, Y., Kusmiyati, M., Pelangi, C. R., Rustamsyah, A., & Rohdiana, D. (2016). Antioxidant activity of ten grades of Indonesia black tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) liquor. *Jurnal Sains Teh dan Kina*, 18(2), 95–100. <https://doi.org/10.22302/pptk.jur.jptk.v18i2.70>
- Sulistiawati, E., Setyawan, M., Abidin, Z., Darmawan, M., Makasar, H. A., & Pamungkas, T. W. (2023). Perbandingan Kinerja Ekstraksi Fikobiliprotein dari Spirulina platensis Melalui Pengadukan dan Freezing-Thawing. *Jurnal Pascapanen dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, 18(1), 41–49. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v18i1.912>
- Tan, H. T., Khong, N. M. H., Khaw, Y. S., Ahmad, S. A., & Yusoff, F. M. (2020). Optimization of the Freezing-Thawing Method for. *Molecules*, 25(3894), 1–14.
- Tello-ireland, C., Lemus-mondaca, R., Vega-gálvez, A., López, J., & Di, K. (2011). Influence of hot-air temperature on drying kinetics, functional properties, colour, phycobiliproteins, antioxidant capacity, texture and agar yield of alga *Gracilaria chilensis*. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2112–2118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.06.008>
- Wahyono, A., Kurniawati, E., Kasutjjaningati, K., Park, K.-H., & Kang, W.-W. (2018). Optimasi Proses Pembuatan Tepung Labu Kuning Menggunakan Response Surface Methodology Untuk Meningkatkan Aktivitas Antioksidannya. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 29(1), 29–38. <https://doi.org/10.6066/jtip.2018.29.1.29>