

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Komposisi Makroalga	12
2. Desain Eksperimental dengan Kondisi Ekstraksi	20
3. Hasil Persen Rendemen dan Kadar Protein <i>Ulva lactuca</i>	25

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. <i>Ulva lactuca</i>	13
2. Tahapan Proses Optimasi menggunakan RSM	18
3. <i>Pareto Plot</i> dari rendemen ekstrak terhadap pH dan waktu ekstraksi	27
4. <i>Contour Plot</i> dari rendemen ekstrak terhadap pH dan waktu ekstraksi	27
5. <i>Surface Plot</i> dari rendemen ekstrak terhadap pH dan waktu ekstraksi	28
6. <i>Optimization Plot</i> dari rendemen ekstrak terhadap pH dan waktu ekstraksi	29
7. <i>Pareto Plot</i> dari kadar protein terhadap pH dan waktu ekstraksi	30
8. <i>Contour Plot</i> dari kadar protein terhadap pH dan waktu ekstraksi	30
9. <i>Surface Plot</i> dari kadar protein terhadap pH dan waktu ekstraksi	31
10. <i>Optimization Plot</i> dari kadar protein terhadap pH dan waktu ekstraksi	31
11. Penimbangan Sampel	44
12. Pencucian Sampel	44
13. Penjemuran Sampel	44
14. Pengeringan di Oven	44
15. Penggilingan Simplisia	45
16. Serbuk Simplisia	45

17. Penimbangan Serbuk Simplisia	45
18. Penimbangan Sampel untuk dibebas lemakkan	45
19. Pencucian dengan Heksan	46
20. Pengeringan di Lemari Asam	46
21. Penyiapan Alat dan Bahan	46
22. Penimbangan Sampel untuk Ekstraksi	46
23. Pencampuran Sampel dengan Pelarut Air	47
24. Pengukuran pH Sesuai Perlakuan	47
25. Ekstraksi UAE	47
26. Proses Penyaringan	47
27. Filtrat Setelah Penyaringan	48
28. Pengukuran pH menjadi 3	48
29. Penambahan Amonium Sulfat	48
30. Penyimpanan Sampel pada Suhu 4 °C	48
31. Pengisian Sampel ke dalam Tabung Sentrifugasi	48
32. Sentrifugasi Sampel	48
33. Hasil Setelah Sentrifugasi	49
34. Penimbangan Cawan Porselin Kosong	49
35. Ekstrak Kental	49
36. Freeze Drying	49
37. Ekstrak Kering	49
38. Penimbangan Cawan Porselin + Ekstrak Kering	49
39. Analisis Protein	50

DAFTAR SINGKATAN

RSM	= <i>Response Surface Methodology</i>
UNCLOS	= <i>United Nation Convention on the Law of the Sea</i>
DKP	= Dinas Kelautan dan Perikanan
KKP	= Kementrian Kelautan dan Perikanan
Sulsel	= Sulawesi Selatan
Kemendag	= Kementrian Perdagangan
SDHPL	= Sumber Daya Hayati Pesisir dan Laut
UAE	= <i>Ultrasound Assisted Extraction</i>
MAE	= <i>Microwave Assisted Extraction</i>
pH	= <i>Power of Hydrogen</i>
RPM	= <i>Revolution Per Minute</i>
DNA	= <i>Deoxyribonucleic Acid</i>
RNA	= <i>Ribonucleic Acid</i>
FFD	= <i>Full Factorial Design</i>
CCD	= <i>Central Composite Design</i>
BBD	= <i>Box-Behnken Design</i>
DD	= <i>Doehlert Design</i>
Sp	= Spinosum
P	= Probabilitas
b/v	= Bobot per Volume
Cm	= <i>Centimeter</i>
M	= Meter
N	= Normalitas

M	= Molaritas
D	= Dimensi
C	= <i>Celcius</i>
Km	= Kilometer
g	= Gram
Kg	= Kilogram
mL	= Mili liter

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Skema Kerja Penelitian	38
2. Perhitungan % Rendemen	41
3. Dokumentasi Penelitian	44
4. Data Hasil Determinasi Sampel <i>Ulva lactuca</i>	51
5. Data Hasil Analisis Protein <i>Ulva lactuca</i>	52
6. Data Hasil Minitab Ver 18	53

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Pada tahun 2050, populasi dunia diperkirakan mencapai 9,7 miliar (Harrysson *et al.*, 2018), sehingga permintaan pangan diperkirakan 60% lebih tinggi (Alexandratos & Bruinsma, 2012) dibandingkan dengan permintaan pangan saat ini. Permintaan global akan protein nabati dan hewani juga meningkat sebagai hasil dari peningkatan populasi dunia (Maldeniya *et al.*, 2020).

Dalam ulasan oleh Aiking (2014), dikatakan bahwa penurunan protein hewani adalah pilihan utama untuk mencapai pasokan pangan yang lebih berkelanjutan di masa depan. Selain itu, lahan garapan yang tersedia semakin terbatas dan bahkan akan menurun per kapita di seluruh dunia (Postma *et al.*, 2018). Produksi pangan dan pakan yang berkelanjutan di laut dapat menjadi pilihan utama karena lautan membentang lebih dari 70% dari permukaan bumi. Rumput laut memberikan peluang besar untuk produksi di laut, dan merupakan komoditas yang dapat digunakan sebagai sumber pangan bagi manusia, pakan ternak, serta sebagai sumber bahan kimia (van den Burg *et al.*, 2013).

Luas wilayah Indonesia sebagian besar, yaitu dua pertiganya merupakan wilayah perairan. *United Nation Convention on the Law of the Sea* (UNCLOS) pada tahun 1982 melaporkan bahwa luas perairan Indonesia adalah 5,8 juta km² dan didalamnya terdapat 27,2% dari seluruh

spesies flora dan fauna di dunia (Dahuri, 1998). Rumput laut merupakan salah satu komoditi andalan ekspor Indonesia dari sektor perikanan dan kelautan. Kemampuan Indonesia sebagai salah satu eksportir rumput laut di dunia ditunjang oleh produksi rumput laut yang mengalami peningkatan setiap tahunnya (Qalsum *et al.*, 2018), dengan rata-rata peningkatan per tahun sebesar 14,68% (KKP, 2016).

Provinsi Sulawesi Selatan merupakan sentra utama rumput laut di Indonesia dengan kontribusi paling besar (29%) tahun 2016 (KKP, 2016). Sentra utama produksi rumput laut di Provinsi Sulawesi Selatan adalah Kabupaten Takalar, Bulukumba, Jeneponto, dan Luwu dengan volume produksi tertinggi tahun 2016 adalah Kabupaten Takalar (DKP Sulsel, 2017).

Kabupaten Takalar adalah salah satu kabupaten penghasil rumput laut terbesar di Provinsi Sulawesi Selatan. Dengan garis pantai sepanjang 74 km, kabupaten ini memiliki produksi rumput laut yang mencapai 923.832 ton (DKP Sulsel, 2017). Dengan strategi yang tepat, produksi rumput laut di Kabupaten Takalar dapat ditingkatkan (Qalsum *et al.*, 2018).

Rumput laut adalah salah satu sumber daya hayati pesisir dan laut (SDHPL) yang telah dimanfaatkan masyarakat sebagai salah satu mata pencarian, karena memiliki nilai ekonomis, mudah dibudidayakan serta biaya produksi yang rendah (Kemendag, 2015). Rumput laut banyak hidup melekat di dasar perairan yang kaya dengan beberapa senyawa biologis aktif termasuk polisakarida dan protein. Rumput laut tumbuh dengan cepat,

dan sangat produktif, serta merupakan makroalga yang memiliki siklus hidup sederhana dan sangat melimpah di perairan dangkal, dekat tepi lautan (Maldeniya *et al.*, 2020). Adapun klasifikasi rumput laut berdasarkan kandungan pigmen terdiri dari 4 kelas, yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyta*), rumput laut merah (*Rhodophyta*), rumput laut coklat (*Phaeophyta*) dan rumput laut pirang (*Chrysophyta*) (Sahri, 2021).

Chlorophyta (rumput laut hijau) dan *Rhodophyta* (rumput laut merah) adalah jenis makroalga yang paling menjanjikan untuk dimanfaatkan sebagai sumber protein untuk pangan fungsional dan pengembangan pakan. Diantara makroalga hijau, *Ulva sp.* adalah biomassa yang menjanjikan karena memiliki distribusi di seluruh dunia dan kadar protein yang dilaporkan dalam literatur adalah antara 7% hingga 33% dari berat kering tanaman alga. Terlepas dari kandungan protein totalnya, organisme laut telah beradaptasi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim termasuk konsentrasi garam yang tinggi. Dengan demikian, makroalga laut adalah sumber protein yang menarik (Garcia-Vaquero & Hayes, 2019).

Ulva lactuca adalah spesies rumput laut hijau yang umumnya dikenal sebagai selada laut. *Ulva* adalah genus kosmopolitan yang ditemukan tumbuh di pantai berbatu dan dataran terumbu di seluruh dunia (Roleda *et al.*, 2021). Beberapa peneliti melaporkan bahwa kandungan protein *Ulva lactuca* berkisar 8-15,3% (Ulu *et al.*, 2021).

Protein merupakan komponen yang penting bagi tubuh dan diperlukan untuk struktur tubuh dan beberapa fungsi tubuh (Suryandari &

Widyastuti, 2015). Dalam kehidupan, protein memegang peranan yang penting. Proses kimia dalam tubuh dapat berlangsung dengan baik karena adanya enzim, suatu protein yang berfungsi sebagai biokatalis. Disamping itu, hemoglobin dalam butir-butir darah merah atau eritrosit yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh bagian tubuh, adalah salah satu jenis protein. Demikian pula, zat-zat yang berperan untuk melawan bakteri penyakit atau yang disebut antigen, juga suatu protein (Poedjiadi, 1994).

Kebutuhan protein bagi tubuh adalah 10-15% dari total energi dengan proporsi asupan protein nabati adalah 60-80% kebutuhan protein dan protein hewani sebesar 20-40% kebutuhan protein. Protein nabati secara alami merupakan protein yang rendah lemak jenuh, rendah kolesterol, mengandung serat dan karbohidrat kompleks (Suryandari & Widyastuti, 2015). Selain itu, protein nabati lebih murah dibandingkan dengan protein hewani yang relatif mahal harganya, sehingga tidak semua keluarga mampu menyediakan protein hewani dalam menu sehari-hari (Winarti & Widyastuti, 2015).

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) adalah suatu metode inovatif yang sangat menarik dalam beberapa tahun terakhir karena keunggulannya yang luar biasa dibandingkan metode konvensional, seperti prosesnya yang cepat, penggunaan volume pelarut yang rendah, lebih efisien, dan ramah lingkungan. Sebagian besar penelitian yang menggunakan UAE untuk memperoleh protein dari alga umumnya menggunakan pelarut air.

Selain itu, UAE dengan menggunakan air sebagai pelarut, mempromosikan pemulihan protein tertinggi (84%) dari sumber alga, dibandingkan dengan metode lainnya, seperti alkali, enzimatik, termal, dan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) (Carreira *et al.*, 2021).

Dalam penelitian Ummat *et al.* (2020) melaporkan bahwa hasil ekstraksi UAE secara statistik ($p < 0,05$) lebih tinggi dari hasil yang diperoleh dari ekstraksi konvensional untuk semua rumput laut yang diteliti. Hasil yang diperoleh dari ekstraksi konvensional berada di kisaran 10,5%-19,3%, sedangkan hasil yang diperoleh dengan menggunakan UAE berada pada kisaran 20,4%-36,9%. Ultrasound secara signifikan dapat meningkatkan hasil ekstraksi 1,5-2,2 kali lipat di semua rumput laut yang diteliti.

Response Surface Methodology (RSM) adalah kombinasi dari statistik dan teknik matematika untuk konstruksi model, menilai pengaruh beberapa variabel bebas untuk mencapai nilai variabel yang optimal dengan tujuan untuk mendapatkan produk yang diinginkan (Breig SJM & Luti KJK, 2021). RSM merupakan teknik yang terdiri dari statistik analisis dimana setiap respon saling berhubungan dengan jumlah variabel dan tanggapan (Mohammed & Nuruddin, 2018).

Desain eksperimental RSM memungkinkan untuk melakukan percobaan dalam jumlah yang sedikit. Hasil analisis program RSM ditampilkan dalam bentuk kontur yang menghasilkan titik optimum (kondisi optimum) berupa optimasi maksimum dan minimum (Hilmi & Prastujati, 2020). Desain pengoptimalan dengan menggunakan RSM sangat

direkomendasikan untuk mengecualikan persyaratan sejumlah besar proses yang bertujuan untuk mengoptimalkan semua variabel yang dapat dioptimalkan sehingga dapat memaksimalkan produksi (Breig SJM & Luti KJK, 2021).

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian mengenai Optimasi Proses Ekstraksi Protein dari *Ulva lactuca* Asal Kabupaten Takalar dengan *Response Surface Methodology* (RSM).

I.2 Rumusan Masalah

Bagaimana kondisi optimum dari parameter pH dan waktu ekstraksi pada proses ekstraksi protein *Ulva lactuca* melalui pendekatan *Response Surface Methodology* (RSM)?

I.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kondisi optimum dari parameter pH dan waktu ekstraksi pada proses ekstraksi protein *Ulva lactuca* melalui pendekatan *Response Surface Methodology* (RSM).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Alga

II.1.1 Uraian Umum Alga

Alga merupakan kelompok tumbuhan yang hidup di perairan laut, baik perairan dangkal maupun perairan dalam yang masih disinari oleh cahaya matahari. Alga tergolong dalam kelompok tumbuhan tingkat rendah. Alga ada yang berukuran sangat kecil dan tergolong sebagai mikroalga dan ada yang tergolong sebagai makroalga (Kasim, 2016).

Makroalga adalah kelompok tumbuhan yang tidak mempunyai akar, batang, bunga, dan daun sejati dengan artian bahwa kelompok tumbuhan yang hanya mempunyai semacam daun, batang, bunga dan akar sebagai bagian dari morfologi tubuhnya. Tumbuhan laut tingkat rendah yang hidup di laut disebut dengan nama alga laut atau *seaweed* yang merupakan tumbuhan bertalus sehingga dikelompokkan dalam *thallopyta*. Tubuhnya tidak berdaun, berbatang, serta berakar, tetapi menyerupai daun, batang, dan akar yang disebut *thallus* (Kasim, 2016).

Secara alamiah parameter yang menentukan pertumbuhan rumput laut adalah kualitas dan kuantitas nutrisi, cahaya matahari, pH, turbulensi, salinitas dan suhu. Makronutrien seperti nitrat, fosfat dan silikat serta mikronutrien seperti vitamin sangat diperlukan untuk pertumbuhan alga. Cahaya memegang peranan penting bagi pertumbuhan alga dan kebutuhannya sangat bervariasi tergantung kedalaman dan kerapatan

pertumbuhan rumput laut. pH yang sesuai bagi rumput laut berkisar antara 7-9 dengan optimasi antara 8,2-8,6. Salinitas optimal bagi rumput laut berkisar antara 20-24 ppt (Kasanah *et al.*, 2018).

Perubahan suhu yang ekstrim mengakibatkan kematian pada alga atau terganggunya tahap-tahap reproduksi, serta terhambatnya pertumbuhan. Secara fisiologis, suhu rendah mengakibatkan aktivitas biokimia dalam tubuh *thallus* berhenti, sedangkan suhu tinggi akan menyebabkan rusaknya enzim dan hancurnya mekanisme biokimiawi dalam *thallus* makroalga (Kasim, 2016).

II.1.2 Penggolongan Alga

Penyusunan klasifikasi makroalga didasarkan pada kandungan warna yang paling mencolok sehingga dapat menutupi warna lain yang terkandung didalamnya. Berdasarkan kandungan warna tersebut, maka makroalga dapat dikelompokkan menjadi 4 kelas, yaitu *Rhodophyta* (alga merah), *Chlorophyta* (alga hijau), *Phaeophyta* (alga coklat), dan *Chrysophyta* (alga keemasan) (Kasim, 2016).

Umumnya pembagian golongan dalam alga ditentukan oleh warna dan pigmen dalam tubuhnya, bentuk morfologi, jumlah cabang, bentuk percabangan, sistem perakaran, sistem pembentukan *thallus*, kandungan klorofil yang ada dalam sel, dinding sel, kandungan protein, kandungan unsur dalam dinding maupun inti selnya, jumlah dan bentuk flagel atau cilia dan atau bentuk sel bagi yang unisesuler (Kasim, 2016).

Berikut penggolongan alga berdasarkan kandungan warna:

1. Alga Merah (*Rhodophyta*), mengandung pigmen phycoerythrin dan phycobilin. Pigmen ini bertanggung jawab atas penyerapan warna biru sehingga memungkinkan alga merah untuk melakukan fotosintesis pada laut yang lebih dalam. Itulah sebabnya alga merah banyak dijumpai hidup di laut daripada alga hijau atau coklat. Alga merah juga mengandung pigmen (Kasanah *et al.*, 2018).
2. Alga Hijau (*Chlorophyta*), berwarna hijau terang karena mengandung klorofil a dan b. Pigmen lain yang dimiliki adalah beta karoten dan xantofil. Alga hidup di tempat dengan sinar matahari yang berlimpah seperti daerah laut dangkal atau intertidal. Akan tetapi alga hijau juga dijumpai di daerah air tawar dan lingkungan terestrial. Hanya 10% dari 7000 spesies hidup di laut. Beberapa spesies mendominasi lingkungan dengan variasi salinitas yang lebar. *Ulva* sp, *Caulerpa* sp, *Halimeda* sp merupakan contoh alga hijau yang populer (Kasanah *et al.*, 2018).
3. Alga coklat (*Phaeophyta*), berwarna bervariasi dari hijau sampai coklat gelap karena pigmen kuning terutama karena fucoxantin, klorofil a dan c. Fucoxantin merupakan senyawa spesifik pada alga coklat karena tidak ditemukan pada jenis rumput lain yang lain. Alga coklat dapat ditemukan di mana-mana dari daerah tropikal hingga kutub. Hampir 1500 spesies merupakan habitat laut. Contoh: *Sargassum* sp, *Ectocarpus* sp, *Desmarestia* sp. alga coklat ekonomis sebagai penghasil utama alginat (Kasanah *et al.*, 2018).

4. Alga Keemasan (*Chrysopyta*), memiliki klorofil a dan c serta pigmen dominant karoten. Habitatnya ada di air tawar, air laut, dan tempat yang basah, struktur tubuhnya terdiri atas satu sel atau banyak sel. Bereproduksi dengan 2 cara yaitu dengan cara aseksual dan seksual. Dengan aseksual yaitu dengan cara membelah diri dan membentuk zoospora atau aplanospora, sedangkan seksual dengan cara konjugasi dan oogami (Ali, 2013).

II.1.3 Morfologi Alga

Rumput laut merupakan organisme eukariotik dan kompleks tetapi tidak memiliki spesialisasi struktur dan reproduksi seperti tanaman yang hidup di darat. Rumput laut merupakan bentuk primitif tanaman yang tidak memiliki daun, batang, dan akar disebut thallus dapat berbentuk filamen, lapisan daun yang tipis atau yang sesungguhnya. Tubuh yang lengkap rumput laut raksasa. Bagian-bagian rumput laut holdfast, stipe dan blade. Jika dibandingkan dengan tanaman terrestrial. Bagian holdfast menyerupai bentuk akar. Stipe merupakan batang dari tanaman rumput laut dan blade merupakan bagian daun (Kasanah *et al.*, 2018).

Secara morfologis, rumput laut merupakan tanaman yang berklorofil dan memiliki *thallus* atau batang. Rumput laut tidak memiliki perbedaan yang jelas antara akar, batang, dan daun. Pertumbuhan dan percabangan *thallus* rumput laut antara jenis yang satu dengan yang lainnya berbeda-beda. Bentuk *thallus* rumput laut juga bervariasi, antara lain bulat seperti

tabung, pipih, gepeng, bulat seperti kantong, lembaran dan juga ada yang berbentuk seperti helai rambut (Nikmah, 2019).

Bentuk-bentuk percabangan *thallus* rumput laut antara lain sebagai berikut (Nikmah, 2019):

1. Tidak Bercabang, yakni *thallus* tumbuh memanjang atau menjalar dan tidak memiliki percabangan.
2. *Dichotomous* (Bercabang Dua), yakni tiap-tiap *thallus* yang tumbuh akan memiliki cabang dan dari cabang ini akan muncul cabang lagi dan begitu seterusnya.
3. *Pinnate Alternative*, yakni *thallus* tumbuh bercabang dua-dua sepanjang *thallus* utama secara dipilih-seling (berganti-ganti).
4. *Pinnate Distichous*, yakni *thallus* tumbuh bercabang dua-dua sepanjang talus utama secara beraturan.
5. *Tetrastichous*, yakni *thallus* tumbuh dengan memiliki percabangan dua-dua sepanjang *thallus* utama.
6. *Ferticillate*, yakni cabang-cabang *thallus* tumbuh dengan sumbu *thallus* sebagai sumbu utama.
7. *Polystichous*, yakni cabang-cabang *thallus* tumbuh pada *thallus* utama tidak beraturan (banyak cabang pada *thallus* utama).
8. *Pectinate*, yakni cabang-cabang *thallus* tumbuh pada satu sisi *thallus*.
9. *Monopodial*, yakni cabang tumbuh satu-satu pada tiap-tiap *thallus*.
10. *Sympodial*, yakni percabangan pada *thallus* tumbuh searah dan bisa lebih dari satu cabang pada masing-masing *thallus*.

II.1.4 Kandungan dan Manfaat Alga

Komposisi rumput laut Rumput laut sangat berbeda dari tanaman darat. Dibandingkan dengan biomassa terestrial, makroalga mengandung kandungan tinggi air (90% berat segar), Karbohidrat (25–50% berat kering), protein (7–15% berat kering) dan kandungan lipid rendah (1–5% berat kering). Komposisi makroalga beserta penyusunnya dapat dilihat pada tabel 1. Adapun komponen bioaktif rumput laut antara lain: fucoidan, fucoxanthin, laminarin (β -1,3 glukukan), manitol, asam alginat, alginat M tinggi, pigmen, anti-oksidan, vitamin, dan mineral (Sudhakar *et al.*, 2018).

Tabel 1. Komposisi Makroalga

Komponen	Komposisi
Karbohidrat	Alga coklat: 30-50% berat kering Alga merah: 30-60% berat kering Alga hijau: 25-50% berat kering
Protein	Alga coklat: 3-15% berat kering Alga merah: 10-47% berat kering Alga hijau: 9-26% berat kering
Mineral	7-38%
Lipid	1-3%
Air	80-90%

Sumber: Sudhakar *et al.*, 2018.

Beberapa jenis rumput laut merupakan sumber potensial pangan fungsional yang dapat dimanfaatkan untuk kesehatan karena mengandung senyawa kimia yang mempunyai aktivitas biologis. Kandungan dalam rumput laut meliputi alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, tanin, dan saponin (Lantah *et al.*, 2017). Beberapa zat aktif yang diisolasi dari rumput

laut, menunjukkan signifikan aktivitas antitumor, antibakteri, antivirus, dan antioksidan (Li *et al.*, 2018).

II.2 *Ulva lactuca*

II.2.1 Klasifikasi *Ulva lactuca*

Adapun klasifikasi *Ulva lactuca* adalah sebagai berikut: (Kasanah *et al.*, 2018).



Gambar 1. *Ulva lactuca*

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Ulvophyceae
Ordo	: Ulvales
Famili	: Ulvaceae
Genus	: <i>Ulva</i>
Spesies	: <i>Ulva lactuca</i>

II.2.2 Morfologi *Ulva lactuca*

Alga berwarna hijau dengan *thallus* bertipe *membranous* yang berbentuk lembaran seperti daun tipis dan halus yang dapat mencapai lebar 3 cm. Pinggiran lembaran bergelombang dan tinggi *thallus* mencapai 4 cm. Bentuk *thallus* pada *Ulva lactuca* berbeda dengan jenis ulva yang lain,

dimana bentuk *thallus*-nya menyerupai segi empat yang memanjang. Alga ini ditemukan melimpah di daerah dekat dengan bibir pantai sampai jarak 7 m dari bibir pantai pada surut terendah. *Holdfast*-nya berbentuk cakram yang melekat pada batuan dan karang (Kasanah *et al.*, 2018).

II.2.3 Kandungan dan Manfaat *Ulva lactuca*

Roleda *et al.* (2021) menemukan bahwa *Ulva lactuca* memiliki kandungan nutrisi karbohidrat, protein, asam lemak yang setara dengan buah tertentu, sayuran, kacang-kacangan dan sereal.

Studi fitokimia menunjukkan beberapa bahan aktif fotosintesis dari *Ulva lactuca* seperti (+)- epiloliolide, turunan *carotenoid derivative* yang memberi efek *apoptotic via the regulation of the p53 gene*, ulfapyrone yang merupakan *anti-inflammatory pyrone* yang analog dengan *benzochromene named ulvapyrone* dan *3-O-β-D glucopyranosylstigmasta-5.25-dien* bersifat antibakterial dan antifungal. Selain itu, terdapat kandungan asam palmitat, *isofucosterol*, *hydrocarbons* dan *norterpenes*. Ekstrak kasar dari *Ulva lactuca* signifikan memperlihatkan kemampuan antivirus terhadap berbagai virus DNA and RNA (Litaay *et al.*, 2022).

II.3 Protein

II.3.1 Uraian Umum Protein

Protein merupakan komponen yang penting bagi tubuh dan diperlukan untuk struktur tubuh dan beberapa fungsi tubuh (Suryandari & Widyastuti, 2015). Dalam kehidupan, protein memegang peranan yang penting. Proses kimia dalam tubuh dapat berlangsung dengan baik karena

adanya enzim, suatu protein yang berfungsi sebagai biokatalis. Disamping itu, hemoglobin dalam butir-butir darah merah atau eritrosit yang berfungsi sebagai pengangkut oksigen dari paru-paru ke seluruh bagian tubuh, adalah salah satu jenis protein. Demikian pula, zat-zat yang berperan untuk melawan bakteri penyakit atau yang disebut antigen, juga suatu protein (Poedjiadi, 1994).

II.3.2 Sumber Protein

Sumber protein di alam dapat dijumpai pada tumbuhan atau disebut sebagai protein nabati dan diperoleh juga dari protein hewani yang bersumber dari hewan. Suatu protein biasanya mengandung berbagai asam amino yang berbeda dihubungkan melalui ikatan peptida. Protein sangat dibutuhkan oleh makhluk hidup untuk memproduksi protein-protein baru sesuai yang diperlukan oleh tubuh (Wardani & Sujana, 2020).

Kebutuhan protein bagi tubuh adalah 10-15% dari total energi dengan proporsi asupan protein nabati adalah 60-80% kebutuhan protein dan protein hewani sebesar 20-40% kebutuhan protein (Winarti & Widyastuti, 2015).

II.3.3 Analisis Protein

Penetapan kadar protein secara kuantitatif dengan metode kjeldahl dilakukan dengan menetapkan kandungan nitrogen yang terdapat dalam sampel. Kadar protein dapat ditentukan dengan cara mengalikan jumlah nitrogen yang diperoleh dengan suatu faktor konversi (Hartono, *et al.*, 2018).

Analisis protein dengan metode kjeldahl dapat dibagi menjadi 3 tahapan, yakni tahap destruksi, tahap destilasi, dan tahap titrasi. Pada tahap destruksi bertujuan untuk memecahkan H_2SO_4 menjadi unsur-unsurnya. Kemudian pada tahap destilasi bertujuan untuk memisahkan zat yang diinginkan. Dan pada tahap titrasi bertujuan untuk mengetahui kelebihan HCl 0,1 N. Kemudian dilakukan penetapan kadar nitrogen lalu kadar protein dapat ditentukan dengan mengalikan kadar nitrogen yang diperoleh dengan faktor konversi (6,25) (Komariyah, 2018).

II.4 Ultrasound Assisted Extraction (UAE)

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) adalah suatu metode inovatif yang sangat menarik dalam beberapa tahun terakhir karena keunggulannya yang luar biasa dibandingkan metode konvensional, seperti prosesnya yang cepat, penggunaan volume pelarut yang rendah, lebih efisien, dan ramah lingkungan. Sebagian besar penelitian yang menggunakan UAE untuk memperoleh protein dari alga umumnya menggunakan pelarut air. Selain itu, UAE dengan menggunakan air sebagai pelarut, mempromosikan pemulihan protein tertinggi (84%) dari sumber alga, dibandingkan dengan metode lainnya, seperti alkali, enzimatik, termal, dan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) (Carreira *et al.*, 2021).

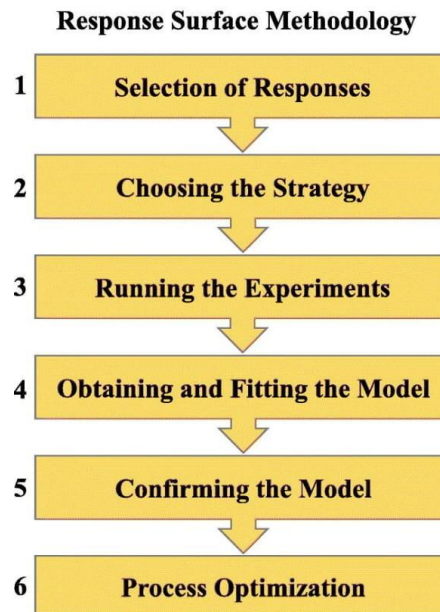
Dalam penelitian Ummat *et al.* (2020) melaporkan bahwa hasil ekstraksi UAE secara statistik ($p < 0,05$) lebih tinggi dari hasil yang diperoleh dari ekstraksi konvensional untuk semua rumput laut yang diteliti. Hasil yang diperoleh dari ekstraksi konvensional berada di kisaran 10,5%-19,3%,

sedangkan hasil yang diperoleh dengan menggunakan UAE berada pada kisaran 20,4%-36,9%. Ultrasound secara signifikan dapat meningkatkan hasil ekstraksi 1,5-2,2 kali lipat di semua rumput laut yang diteliti.

II.5 Response Surface Methodology (RSM)

Response Surface Methodology (RSM) pada dasarnya merupakan kumpulan metode matematika dan statistik yang berguna untuk merancang eksperimen, mengembangkan model dengan mempertimbangkan interaksi parameter, serta proses optimasi. RSM didasarkan pada pemasangan model matematika ke hasil eksperimen, dari serangkaian eksperimen yang dirancang dan verifikasi model yang diperoleh dengan teknik statistik. Tujuan utama dari RSM adalah untuk mendapatkan kondisi operasional yang optimal (Karimifard & Moghaddam, 2018). Desain eksperimental RSM memungkinkan untuk melakukan percobaan dalam jumlah yang sedikit. Hasil analisis program RSM ditampilkan dalam bentuk kontur yang menghasilkan titik optimum (kondisi optimum) berupa optimasi maksimum dan minimum (Hilmi & Prastujati, 2020).

Dalam *Response Surface Methodology (RSM)*, model yang dibangun bergantung pada data dalam desain eksperimental, menggambarkan hubungan antara faktor-faktor (parameter independen) dan respon (parameter dependen). Model-model ini (korelasi) digunakan dalam mengevaluasi pengaruh faktor, interaksi pada respon dan optimalisasi proses. Secara umum, hasilnya dijelaskan oleh plot 3D atau dengan plot kontur 2D (Breig SJM & Luti KJK, 2021).



Gambar 2. Tahapan Proses Optimasi menggunakan RSM (Karimifard & Moghaddam, 2018)

Tahapan dalam optimasi menggunakan RSM terdiri dari 6 tahapan diantaranya pemilihan faktor independen (parameter) dan memilih respon yang diinginkan, memilih strategi untuk desain eksperimental, menjalankan percobaan hingga memperoleh data, menyesuaikan model dengan data eksperimental, mengkonfirmasi model menggunakan grafik, selanjutnya penentuan kondisi optimal (Karimifard & Moghaddam, 2018).

Terdapat 4 tipe RSM diantaranya adalah *Full Factorial Design* (FFD), *Central Composite Design* (CCD), *Box-Behnken Design* (BBD) dan *Doehlert Design* (DD) (Karimifard & Moghaddam, 2018).

1. *Full Factorial Design* adalah prosedur desain eksperimental yang khas, dimana semua faktor ditetapkan pada dua atau tiga tingkat. Dalam FFD, faktor tiga tingkat yang lebih umum dapat mengambil tiga nilai yakni rendah, tengah dan tinggi. Kerugian utama pada desain FFD adalah

membutuhkan banyak percobaan sehingga memakan waktu yang lama (Karimifard & Moghaddam, 2018).

2. *Central Composite Design* merupakan metode desain yang paling banyak digunakan dalam pembuatan model desain eksperimental orde kedua. Apalagi diketahui bahwa model orde kedua dapat secara signifikan meningkatkan proses optimasi. CCD memberikan informasi yang sama dengan FFD, namun dengan percobaan yang jauh lebih sedikit. CCD memiliki tiga jenis titik, yakni titik pusat, titik aksial, dan titik kubus (Karimifard & Moghaddam, 2018).
3. *Box-Behnken Design* merupakan desain faktorial tidak sempurna tiga tingkat sebagai alternatif untuk desain faktorial penuh yang sangat memakan waktu. Dalam desain ini, jumlah percobaan diminimalkan dan lebih baik menggunakan polinomial orde kedua untuk secara akurat menggambarkan interaksi linear. Desain BBD lebih hemat tenaga kerja dibandingkan dengan FFD dan CCD. Namun, desain ini memiliki kelemahan yakni jumlah faktor eksperimental harus lebih atau sama dengan tiga (Karimifard & Moghaddam, 2018).
4. *Doehlert Design* merupakan desain fleksibel yang didasarkan pada simpleks k-dimensi dengan satu puncak dititik tengah, dimana k adalah jumlah faktor. DD membutuhkan sejumlah kecil percobaan bahkan dengan banyak faktor. Desain DD biasanya digunakan untuk menganalisis tiga atau lebih faktor (Karimifard & Moghaddam, 2018).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, botol coklat, vial, erlenmeyer, gelas ukur, beaker, labu tentukur, corong, cawan porselin, kaca arloji, herbs dryer, alat penggiling, buret, statif, klem, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *micro centrifuge*, tabung eppendorf, *freeze dryer*, lemari asam, kulkas, termometer, pH-meter dan labu Kjeldahl, serta alat standar.

Adapun bahan-bahan yang digunakan yaitu, rumput laut *Ulva lactuca*, kertas saring, kertas perkamen, heksan, amonium sulfat, asam sulfat pekat, selenium, NaOH 10%, larutan H₃BO₃ 2%, larutan HCl standar, metil merah, aquadest, *waterone*, HCl 0,1 M, NaOH 0,1 M, HCl 0,1 N dan es batu.

III.2 Determinasi Tanaman

Determinasi alga hijau (*Ulva lactuca*) dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran identitas suatu tanaman.

III.3 Metode Kerja

III.3.1 Penyiapan Sampel

Sampel rumput laut (*Ulva lactuca*) diambil sebanyak 25,8 kg yang diperoleh dari Desa Punaga kabupaten Takalar Provinsi Sulawesi Selatan. Selanjutnya, sampel disortasi basah, lalu dicuci pada air mengalir. Setelah itu, dikeringkan dibawah sinar matahari selama 1 hari. Selanjutnya, sampel