

| | |
|--|----|
| II.4 <i>Response Surface Methodology (RSM)</i> | 13 |
| BAB III METODE PENELITIAN | 15 |
| III.1 Alat dan Bahan | 15 |
| III.1.1 Alat | 15 |
| III.1.2 Bahan | 15 |
| III.2 Determinasi | 15 |
| III.3 Metode Kerja | 15 |
| III.3.1 Penyiapan Sampel | 15 |
| III.4 Optimasi Proses Ekstraksi Protein | 16 |
| III.4.1 Desain Eksperimental | 16 |
| III.4.2 Ekstraksi Protein dengan Metode <i>Ultrasound-Assisted</i> | 17 |
| III.4.3 Penentuan Rendemen | 18 |
| III.4.4 Penentuan Kadar Protein dengan Metode <i>Kjeldhal</i> | 18 |
| III.5 Analisis dengan Metode <i>Response Surface Methodology</i> | 19 |
| BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | 20 |
| BAB V. PENUTUP | 28 |
| V.1 Kesimpulan | 28 |
| V. 2 Saran | 28 |
| DAFTAR PUSTAKA | 29 |
| LAMPIRAN | 33 |

DAFTAR TABEL

| Tabel | Halaman |
|--|---------|
| 1. Metode dan Pelarut Ekstraksi Protein | 11 |
| 2. Desain eksperimental dengan kondisi ekstraksi | 13 |
| 3. Hasil perhitungan persen rendemen dan kadar protein <i>E.cottonii</i> | 17 |

DAFTAR GAMBAR

| Gambar | Halaman |
|---|---------|
| 1. <i>Eucheuma cottonii</i> | 7 |
| 2. <i>Pareto Chart</i> dari persen rendemen vs waktu ekstraksi : pH | 18 |
| 3. <i>Pareto Chart</i> dari kadar protein vs waktu ekstraksi : pH | 19 |
| 4. <i>Contour plot</i> dari persen rendemen vs waktu ekstraksi : pH | 20 |
| 5. <i>Contour plot</i> dari kadar protein vs waktu ekstraksi : pH | 20 |
| 6. <i>Surface plot</i> dari persen rendemen vs waktu ekstraksi : pH | 21 |
| 7. <i>Surface plot</i> dari kadar protein vs waktu ekstraksi : pH | 21 |
| 8. <i>Optimization plot</i> hasil rendemen vs waktu ekstraksi : pH | 22 |
| 9. <i>Optimization plot</i> hasil kadar protein vs waktu ekstraksi : pH | 22 |
| 10. Pengambilan sampel rumput laut <i>E.cottonii</i> | 35 |
| 11. Pencucian sampel rumput laut <i>E.cottonii</i> | 35 |
| 12. Proses pengeringan sampel <i>E.cottonii</i> di bawah sinar matahari | 35 |
| 13. Proses pengeringan sampel <i>E.cottonii</i> menggunakan oven | 35 |
| 14. Simplisia kering sampel <i>E.cottonii</i> | 35 |
| 15. Proses penggilingan sampel | 35 |
| 16. Proses penghilangan lemak sampel | 36 |
| 17. Berat sampel rumput laut <i>E.cottonii</i> sebelum di ekstraksi | 36 |
| 18. Proses pengukuran pH sampel <i>E.cottonii</i> | 36 |
| 19. Proses ekstraksi <i>E.cottonii</i> | 36 |
| 20. Proses penyaringan ekstrak sampel <i>E.cottonii</i> | 36 |
| 21. Proses sentrifugasi sampel rumput laut <i>E.cottonii</i> | 36 |
| 22. Proses <i>Freeze drying</i> sampel rumput laut <i>E.cottonii</i> | 37 |

| | |
|---|----|
| 23. Sampel dimasukkan ke dalam tabung <i>Kjeldhal</i> | 37 |
| 24. Proses penambahan selenium mix | 37 |
| 25. Proses penambahan asam sulfat | 37 |
| 26. Proses destruksi | 37 |
| 27. Proses analisis kadar protein | 37 |
| 28. Hasil <i>freeze drying</i> sampel rumput laut <i>E.cottonii</i> | 37 |

DAFTAR LAMPIRAN

| Lampiran | Halaman |
|--|---------|
| 1. Skema Kerja | 46 |
| 2. Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak | 47 |
| 3. Perhitungan Kadar Protein | 47 |
| 4. Data Hasil Minitab ver.18 | 49 |
| 5. Dokumentasi Penelitian | 50 |
| 6. Determinasi sampel | 50 |
| 7. Data hasil analisis kadar protein | 50 |

DAFTAR SINGKATAN

g : gram

mg : milligram

mL : mililiter

UAE : *Ultrasound Assisted Extraction*

RSM : *Response Surface Methodology*

rpm : *Revolution Per Minute*

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu Negara yang dikenal sebagai produsen rumput laut terbesar kedua setelah Tiongkok. Pada tahun 2020 Indonesia memperoleh penghasilan yang mencapai 279,58 juta USD dengan volume ekspor 195.574 ton. Menteri Kelautan dan Perikanan menyampaikan bahwa Kementerian Kelautan dan Perikanan (KKP) tidak hanya berfokus pada produk-produk yang berpotensi untuk menjadi ketahanan pangan nasional akan tetapi juga berfokus pada produksi ekspor komoditas unggulan Indonesia yang memiliki nilai ekonomis tinggi salah satunya adalah rumput laut (Anonim, 2021).

Rumput laut merupakan salah satu tumbuhan yang tergolong tingkat rendah karena bagian antara akar, batang dan daunnya tidak bisa dibedakan. Rumput laut dibedakan menjadi 3 kelas sesuai pigmen yang dikandungnya yaitu rumput laut merah (*Rhodophyceae*), rumput laut coklat (*Phaeophyceae*), dan rumput laut hijau (*Chlorophyceae*). Ketiga kelompok tersebut dapat menghasilkan metabolit primer senyawa hidrokoloid seperti agar, karagenan dan alginat. Hasil metabolit tersebut menyebabkan rumput laut memiliki nilai ekonomis yang cukup tinggi (Agustang, 2021).

Rumput laut telah banyak digunakan dalam industri makanan, kosmetik, farmasi, tekstil dan pertanian. Beberapa kandungan yang

dimiliki rumput laut adalah karbohidrat, protein, lemak, abu, berbagai macam vitamin (A, B1, B2, B6, B12) dan mineral (K, Ca, Na, Fe dan iodium). Kandungan tersebut umumnya berbeda berdasarkan jenis, cara penanganan, dan lokasi perairan tempat budidaya rumput laut tersebut. Menurut Tapotubun (2018) metode pengeringan yang berbeda akan menghasilkan kadar nutrisi rumput laut yang berbeda pula (Safia et al, 2020).

Salah satu kandungan yang terdapat pada rumput laut adalah protein. Protein merupakan polimer yang terdiri dari unit asam amino yang dibutuhkan manusia. Tubuh manusia membutuhkan 20 asam amino sebagai penyusun protein. Beberapa asam amino dapat diproduksi oleh tubuh yang dikenal sebagai nutrisi nonesensial dan beberapa lainnya merupakan nutrisi yang tidak dapat diproduksi oleh tubuh dan diperoleh melalui makanan yang disebut sebagai nutrisi esensial. Beberapa fungsi protein adalah sebagai molekul transport, membangun dan mempertahankan komponen struktural sel dan jaringan, pembentukan hormon, zat pembekuan, dan zat kekebalan. (Arneson, 2007).

Beberapa tahun terakhir bahan protein telah mengalami peningkatan permintaan yang tinggi. Permintaan tersebut mendorong industri makanan untuk membuat produk yang mengandung protein. Salah satu perusahaan konsultan manajemen & penerbitan riset pasar global menyebutkan bahwa pada tahun 2020 bahan protein global bernilai 38,5 miliar USD dan diperkirakan akan berkembang sebesar 10,5% dari tahun 2021 hingga 2028. Salah satu faktor pendukung tingginya

permintaan produk makanan dengan bahan protein adalah meningkatnya populasi dan kesadaran konsumen akan kesehatan. Akibatnya terdapat tantangan global untuk mengatasi ketahanan pangan dan melestarikan sumber daya tanah dan air akibat perubahan iklim, pertumbuhan penduduk, dan perubahan pola makan. Tantangan tersebut lalu dijawab oleh beberapa produsen dengan melakukan inovasi beberapa protein yang membentuk berbagai asam amino dan memiliki fungsi tertentu seperti rasa kenyang, perbaikan otot, penurunan berat badan dan keseimbangan energi. Inovasi ini diharapkan mampu memberikan peluang pertumbuhan yang sangat besar bagi pasar. Meningkatnya minat terhadap protein secara keseluruhan mempengaruhi pasar bahan nabati yang diperkirakan akan tumbuh secara signifikan. Penggunaan protein nabati dalam produk makanan juga didorong oleh peningkatan populasi vegan, vegetarian dan flexitarian (Ismail, 2020)(Grandview Research, 2021).

Salah satu jenis rumput laut yang memiliki kandungan protein adalah *Euचेuma cottonii*. *E. cottonii* banyak dimanfaatkan untuk pengembangan industri makanan, kosmetik, obat-obatan, dan industri lainnya. Rumput laut ini memiliki nilai ekonomis tinggi karena kandungan yang dimilikinya (Safni dan Muliawan, 2018) (Safia et al, 2020). Beberapa penelitian menunjukkan kadar protein yang dimiliki *E. cottonii* yaitu 2,32% dan 5,62%. Perbedaan untuk setiap kandungan yang dimiliki tersebut diketahui tergantung oleh beberapa faktor contohnya dapat disebabkan

oleh perbedaan umur panen dan kondisi cuaca pada saat pemeliharaan (Maharany *et al*, 2017).

Untuk mendapatkan senyawa dari suatu tanaman maka dilakukan metode ekstraksi. Metode ekstraksi yang digunakan untuk mendapatkan kandungan protein dari *E.cottonii* adalah *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE). Metode ini merupakan salah satu metode pemisahan suatu senyawa dengan memberikan gelombang ultrasonik pada sampel. Metode ini dianggap lebih efisien dibandingkan dengan metode konvensional seperti maserasi. Keunggulan metode ini adalah penggunaan pelarut yang sedikit dan tidak membutuhkan waktu yang lama (Yuniarto *et al*, 2021).

Metode yang dapat digunakan untuk dapat memperoleh kondisi optimum dari dua variabel penelitian yang diinginkan adalah metode analisis permukaan respon atau *Response Surface Methodology* (RSM). Metode *Response Surface Methodology* merupakan suatu strategi percobaan yang digunakan apabila respon penelitian yang dilakukan dipengaruhi beberapa faktor (Trihaditia R, 2018). Salah satu keunggulan menggunakan metode ini adalah tidak memerlukan data-data percobaan yang besar dan tidak membutuhkan waktu analisis yang lama (Nurmiah *et al*, 2013).

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk melakukan optimasi ekstraksi kandungan protein pada sampel rumput laut *E.cottonii* dengan parameter pH dan lama waktu ekstraksi menggunakan metode UAE dan dianalisis dengan pendekatan RSM.

I.2 Rumusan Masalah

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

I.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kondisi optimum dari parameter pH dan waktu pada proses ekstraksi protein sampel *Eucheuma cottonii* melalui pendekatan *Response Surface Methodology* (RSM)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 *Eucheuma cottonii*

Eucheuma cottonii merupakan salah satu jenis rumput laut merah yang juga dikenal sebagai *Kappaphycus alvarezii*. Rumput laut ini banyak tersebar dan dapat ditemukan berlimpah di sisi dalam terumbu karang di sekitar Filipina, Indonesia dan juga pantai pulau Afrika Timur. Karena laju pertumbuhan yang tinggi, hasil perluasan yang tinggi dan juga efisiensi penangkapan karbondioksida yang tinggi pula makroalga ini disebut sebagai biomassa yang sangat menjanjikan (Jumaidin et al, 2017).

Kabupaten Takalar Sulawesi Selatan merupakan salah satu lokasi sentral untuk produksi rumput laut di Indonesia dan salah satu pembudidaya utama untuk produksi rumput laut jenis *E.cottoni*. Berdasarkan data dari Kementerian Kelautan dan Perikanan dari total rumput laut yang di produksi di Indonesia pada tahun 2016, 30% berasal dari Sulawesi Selatan dan mampu mencapai pasar rumput laut dunia hingga merambah ke beberapa Negara yaitu China, Malaysia, dan Thailand (Rudi et al, 2020).

II.1.1 Klasifikasi *Eucheuma cottonii*



Gambar 1. *Eucheuma cottonii*
(Dokumentasi Pribadi)

| | |
|---------|---|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisio | : Rhodophyta |
| Class | : Rhodophyceae |
| Ordo | : Gigartinales |
| Familia | : Solieriaceae |
| Genus | : <i>Eucheuma</i> |
| Species | : <i>Eucheuma cottonii</i> . (Anggadiredja, 2011) |

II.1.3 Kandungan *E. cottonii*

Eucheuma cottonii merupakan rumput laut dari keluarga *Rhodophyceae* yang sebagian besar dipanen di Asia Tenggara. Rumput laut ini telah lama dieksplorasi sebagai sumber utama kappa karagenan, yang sangat penting dan sering digunakan di banyak industri makanan dan farmasi karena nilainya yang berharga sebagai stabilisator, pengental, pembentuk gel dan lain-lain (Lim, 2015).

Rumput laut *E.cottonii* juga mengandung protein, lipid, karbohidrat, mineral, vitamin C, dan vitamin E. Studi sebelumnya menyebutkan bahwa rumput laut spesies ini memiliki proporsi karbohidrat sebesar 57% dan

protein 4,5% yang besar dalam komposisinya. Menurut Maharany et al (2017) komposisi kimia yang terdapat pada rumput laut ini adalah air 76,15%, abu 5,62%, protein 2,32%, lemak 0,11%, dan karbohidrat 15,8%. Selain itu disebutkan pula kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada *E.cottoni* yaitu flavonoid, fenol hidrokuinon, dan triterpenoid (Jumaidin et al, 2017).

II.1.4 Manfaat *E. cottonii*

E. cottoni adalah sumber kappa-karagenan yang baik yang dapat membentuk gel kuat dengan adanya ion kalium dan digunakan secara luas sebagai bahan pensuspensi, pengental dan pembentuk gel dalam makanan tertentu seperti coklat, susu, es krim, pudding, dan makanan ringan (Lim, 2015).

E.cottoni juga dapat digunakan dalam pembuatan kosmetik seperti sabun, losion, dan gel topical. Penelitian sebelumnya juga menyebutkan bahwa rumput laut *E.cottoni* mengandung vitamin C yang dapat bermanfaat dalam memperkuat sistem kekebalan tubuh dan juga bisa digunakan sebagai antioksidan dalam penangkapan radikal bebas dan regenerasi vitamin E (Maharany et al, 2017)

II.2 Protein

Protein merupakan zat yang memiliki kandungan nitrogen yang dibentuk oleh asam amino. Adanya protein berfungsi sebagai komponen struktural utama pada otot dan jaringan yang ada di dalam tubuh. Protein juga digunakan untuk memproduksi hormon, hemoglobin dan enzim. Kehadiran protein juga dapat digunakan sebagai energi walau bukan

pilihan utama sebagai sumber energi. Untuk dapat digunakan oleh tubuh, protein perlu untuk dimetabolisme terlebih dahulu menjadi bentuk paling sederhana yaitu asam amino (Hoffman, 2004).

Terdapat 20 asam amino yang dibutuhkan oleh tubuh, dan terbagi menjadi dua yaitu esensial dan nonesensial. Asam amino yang dapat disintesis oleh tubuh disebut sebagai asam amino nonesensial sedangkan asam amino yang tidak dapat disintesis oleh tubuh dan perlu diperoleh dari makanan adalah asam amino esensial. Tidak adanya asam amino tersebut dapat membahayakan tubuh dan menurunkan kemampuan jaringan (Hoffman, 2004).

Sumber protein yang diperoleh dari makanan berasal dari hewan (protein hewani) atau tumbuhan (protein nabati). Beberapa makanan yang mengandung protein adalah daging, ikan, telur, susu, beras, gandum, jagung dan buah-buahan. Tumbuhan membentuk protein dari karbondioksida, air dan juga senyawa nitrogen. Hewan yang memakan tumbuhan kemudian akan mengubah protein dari tumbuhan tersebut menjadi protein hewani. Komposisi unsur kimia pada protein adalah karbon 50%, oksigen 23%, nitrogen 16%, hydrogen 7%, belerang 0-3%, dan fosfor 0-3%. Kadar nitrogen pada protein tersebut dapat membantu dalam penentuan kandungan protein pada suatu bahan makanan. Unsur nitrogen pada protein dapat ditentukan secara kuantitatif seperti dengan metode kjeldahl (cara destruksi dengan asam pekat). Berat protein yang dapat ditentukan ialah 6,25 kali berat dari unsur nitrogen yang didapatkan. Pada molekul protein terdapat 20 jenis asam amino yang terikat satu

dengan yang lain oleh ikatan peptide. Protein dapat dipengaruhi oleh suhu yang tinggi, pelarut organik maupun pH (Poedjiadi, 2009).

II.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu teknik pemisahan atau pemurnian suatu senyawa yang bertujuan untuk memperoleh komponen-komponen tertentu seperti senyawa bioaktif dari sampel tanaman tertentu. Terdapat beberapa metode ekstraksi yaitu maserasi, soxhlet, refluks dan hidrodilasi, yang disebut sebagai metode ekstraksi secara konvensional. Penggunaan metode ini dianggap kurang efisien karena membutuhkan waktu yang lama dan pelarut yang banyak (Yuniarto et al, 2021).

Untuk mendapatkan ekstrak yang baik maka harus diperhatikan fakto-faktor yang dapat mempengaruhi proses ekstraksi yaitu persiapan sampel, waktu ekstraksi, suhu, jumlah sampel dan jenis pelarut yang digunakan. Senyawa target pada sampel yang digunakan membutuhkan pelarut yang sesuai sehingga efektivitas ekstraksi dapat dicapai. Kelarutan suatu senyawa dalam pelarut sesuai dengan prinsip *like dissolve like* adalah suatu senyawa dapat terlarut pada pelarut yang memiliki sifat yang sama. Pelarut polar yang dapat digunakan adalah etanol, metanol dan air (Verdiana et al, 2018).

Kelarutan dari suatu senyawa dalam pelarut dipengaruhi oleh ikatan polar dan nonpolar. Pada penelitian ini senyawa target yang akan diekstraksi adalah protein. Protein merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga mudah untuk berikatan dengan pelarut yang bersifat polar. Pelarut polar yang dapat digunakan adalah aquadest dan etanol. Kedua

pelarut tersebut dapat melarutkan protein karena mampu membentuk ikatan hidrogen. Ikatan ini dapat terbentuk dengan mudah apabila atom H terikat dengan atom elektronegatif seperti oksigen dan nitrogen. Diantara kedua pelarut tersebut bahan ekstrak lebih banyak terlarut pada aquades dibandingkan etanol karena lebih banyak mengikat molekul protein. Senyawa organik seperti protein relatif lebih larut dalam air karena pembentukan ikatan hidrogen dengan molekul-molekul air yang sangat kuat. Molekul pada air dapat membentuk ikatan hydrogen yang kuat dengan senyawa protein karena atom nitrogen yang dimilikinya merupakan salah satu atom yang membentuk ikatan hidrogen (Masyitoh et al, 2016). Beberapa pelarut dan metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk ekstraksi protein dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Metode dan pelarut ekstraksi protein

| Metode | Pelarut | Sumber |
|------------------------|-----------------------------------|-------------------------|
| Maserasi | Phosphat buffer saline (PBS) | Kustiyah, et al (2019) |
| Maserasi | NaOH | Jannah, (2015) |
| air-isoelektrik | Air | Ogunwolu, et al (2009) |
| <i>Lowry</i> | NaOH | Harrysson, et al (2018) |
| <i>Ultrasonik bath</i> | Aquadest, aseton, metanol, etanol | Verdiana, et al (2018) |

II.3.1 *Ultrasound Assisted Extraction (UAE)*

Ultrasound Assisted Extraction (UAE) adalah salah satu metode alternatif baru yang digunakan untuk mengekstraksi suatu sampel

tanaman dengan lebih efisien. Metode ini merupakan metode ekstraksi dengan memberikan gelombang ultrasonik pada sampel yang akan digunakan pada proses ekstraksi. Penerapan teknik intensitas ultrasonik dapat diterapkan untuk proses ekstraksi senyawa fitokimia, seperti flavonoid, alkaloid, protein, polisakarida dan minyak esensial dari tanaman yang akan diekstraksi (Widyasanti et al, 2018). Metode ini memiliki beberapa kelebihan yaitu memberikan hasil ekstraksi yang lebih optimal karena efisiensi waktu dan pelarut yang digunakan selain itu ekstraksi ultrasonik mendukung hasil rendemen yang lebih tinggi dan aman terhadap lingkungan. Metode ini telah banyak digunakan oleh beberapa peneliti untuk peningkatan rendemen dan efektivitas ekstraksi (Yuniarto et al, 2021).

II.3.2 *Microwave Assisted Extraction (MAE)*

Microwave Assisted Extraction (MAE) merupakan salah satu metode ekstraksi modern yang memanfaatkan radiasi gelombang mikro untuk membuat proses ekstraksi lebih cepat melalui suatu pemanasan pelarut secara cepat dan efisien. Gelombang elektromagnetiknya akan menembus dinding sel pada sampel dan mengeksitasi molekul air beserta lemak secara merata (Putri et al, 2021). Sel pada sampel kemudian akan menghasilkan panas sehingga metode ini tidak memerlukan konduksi panas seperti oven. Oleh karena itu metode ini dapat dilakukan sangat cepat tanpa merusak zat aktif yang ada didalam sel simplisia. Akan tetapi penggunaan metode ini memberikan daya yang sangat tinggi yang dapat menurunkan efisiensi ekstraksi (degradasi dari komponen yang termolabil)

sehingga menurunkan kandungan senyawa yang terdapat pada larutan penyari (Setiani et al, 2017).

II.4 Analisis Kadar Protein Metode Kjeldahl

Metode Kjeldahl merupakan salah satu metode analisis yang digunakan untuk mengetahui kadar protein yang terkandung dalam suatu sampel dengan mengukur jumlah kadar nitrogen total. Metode ini dilakukan dengan 3 tahapan yaitu, destruksi, destilasi dan titrasi. Penggunaan metode ini memerlukan jumlah sampel dan pereaksi yang sedikit dan waktu analisa yang singkat (Afkar et al, 2020).

Metode pengukuran kandungan nitrogen total ini menggunakan faktor konversi yang akan digunakan untuk menghitung protein total. Faktor konversi yang umum digunakan adalah 6,25 sebagai faktor standar untuk rumput laut. Komposisi nitrogen didalam protein adalah 16% sehingga untuk dapat menentukan kandungan protein dalam suatu sampel dikalikan dengan faktor konversi adalah 6,25 ($100/16$) (Angell et al, 2015).

II.4 *Response Surface Methodology (RSM)*

Response Surface Methodology merupakan kumpulan teknik statistik dan matematika yang berguna untuk pemodelan dan analisis masalah di mana respons yang diinginkan dipengaruhi oleh beberapa variabel dan tujuannya adalah untuk mengoptimalkan respon tersebut. Tidak hanya pengaruh variabel independen, RSM juga menghasilkan suatu model matematis yang menjelaskan terkait proses kimia atau biokimia. Inti dari metode ini adalah untuk mengetahui pengaruh dari

variabel bebas terhadap respon, model keterkaitan antara variabel bebas dan respon, juga memperoleh kondisi proses dengan respon terbaik. Salah satu keunggulan dari metode ini adalah tidak memerlukan data percobaan dalam jumlah yang besar dan tidak membutuhkan waktu yang cukup lama (Nurmiah et al, 2013).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

III.1.1 Alat

Alat yang digunakan adalah , alat penggiling, beaker, botol coklat, buret, cawan porselen, corong, erlenmeyer, freeze dryer (CHRIST®), gelas ukur, timbangan analitik, oven, sentrifuge (HERMLE®), pH meter (HANNA®), thermometer, labu destilasi, labu kjeldhal, labu tentukur, labu penampung, lemari asam, alat Foss (KJELTEC®), lemari pendingin,sonikator (Branson®).

III.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah aquadest, ammonium sulfat, asam borat 2%, asam sulfat, campuran selenium, *Eucheuma cottonii*, HCl, heksana, kertas saring, kertas perkamen, NaOH, dan *water one*.

III.2 Determinasi

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi, Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin.

III.3 Metode Kerja

III.3.1 Penyiapan sampel

Sampel rumput laut *Eucheuma cottonii* diambil dari Desa Punaga Kabupaten Takalar Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel disortasi dan dicuci dengan air mengalir hingga bersih, kemudian dilakukan perajangan. Setelah itu sampel dikeringkan di bawah sinar matahari selama kurang