

III.8 Analisis dengan Metode <i>Response Surface Methodology</i>	27
BAB IV Hasil Dan Pembahasan	29
IV.1 Hasil Analisis Persen Rendemen Ekstrak	30
IV.2 Hasil Analisis Kadar Portein	33
BAB V PENUTUP	37
V.1 Kesimpulan	37
V.2 Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38
LAMPIRAN	43

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Desain Eksperimental	25
2. Hasil data persen Rendemen Ekstrak dan Kadar Protein <i>Caulerpa lentillifera</i>	29

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Tanaman <i>Caulerpa lentillifera</i>	11
2. Struktur Ikatan Protein	18
3. Struktur asam-asam amino pembangun protein	19
4. Rangkaian alat <i>Ultrasound Assisted Extraction</i> (UAE)	22
5. <i>Pareto Chart</i> dari persen rendemen parameter pH dan waktu ekstraksi	30
6. <i>Contour Plot</i> dari persen rendemen parameter pH dan waktu ekstraksi	31
7. <i>Surface Plot</i> dari persen rendemen parameter pH dan waktu ekstraksi	31
8. <i>Optimization plot</i> persen rendemen parameter pH dan waktu ekstraksi	32
9. <i>Pareto Chart</i> dari kadar protein parameter pH dan waktu ekstraksi	33
10. <i>Contour plot</i> dari kadar protein parameter pH dan waktu ekstraksi	34
11. <i>Surface plot</i> dari kadar protein parameter pH dan waktu ekstraksi	34
12. <i>Optimization plot</i> dari kadar protein parameter pH dan waktu ekstraksi	35
13. Penimbangan Sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> )	55
14. Pencucian Sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> )	55
15. Penjemuran Sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> )	55
16. Pengeringan Sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> ) di Oven	55

17. Penggilingan Simplisia	56
18. Serbuk simplisia	56
19. Penimbangan serbuk simplisia	56
20. Penimbangan Sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> ) untuk dibebas lemak	56
21. Proses pencucian dengan menggunakan pelarut Heksan	53
22. Proses pengeringan sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> ) di lemari Asam	53
23. Penimbangan Sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> ) untuk Ekstraksi	53
24. Pencampuran Sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> ) dengan menggunakan Pelarut air	57
25. Pengukuran pH sampel sesuai dengan perlakuan	58
26. Ekstraksi menggunakan metode UAE	58
27. Proses Penyaringan setelah di Ekstraksi	58
28. Hasil Filtrat Sampel Setelah Penyaringan	58
29. Pengukuran pH sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> ) menjadi	55
30. Penambahan Amonium Sulfat pada sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> )	59
31. Pengisian Sampel ke dalam Tabung Sentrifugasi	59
32. Alat Sentrifugasi	59
33. Hasil sampel ( <i>Caulerpa lentillifera</i> ) setelah disentrifuse	60
34. Penimbangan Cawan Porselin Kosong	60
35. Hasil Ekstrak Kental	60
36. Alat <i>Freeze Drying</i>	60
37. Hasil Ekstrak Kering	60
38. Penimbangan Cawan Porselin + Ekstrak Kering	61

39. Hasil Analisis Protein	61
40. Hasil Data Analisis Protein	61
41. Hasil Data Analisis RSM	62

## DAFTAR SINGKATAN

UAE	= <i>Ultrasonic Assisted Extraction</i>
RSM	= <i>Response Surface Methodology</i>
Kg	= kilogram
Mg	= miligram
mL	= milliliter
g	= gram
rpm	= <i>Rotation Per Minute</i>
kHz	= kilohertz
C	= Celcius
M	= Molaritas
N	= Normalitas
b/v	= bobot per volume

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran

Halaman

1. Skema Kerja	43
2. Perhitungan Persen Rendemen Ekstrak	46
3. Perhitungan Kadar Protein	48
4. Data Hasil Analisis Persen Rendemen Ekstrak Minitab 18	50
5. Data Hasil Analisis Kadar Protein Minitab 18	53
6. Dokumentasi Penelitian	55
7. Surat Keterangan Hasil Determinasi Tanaman	63
8. Data Hasil Analisis Kadar Protein	65

# BAB I

## PENDAHULUAN

### I.1 Latar Belakang

Rumput laut atau seaweed salah satu sumber daya hayati diperairan Indonesia dengan hasil dari total biota laut yaitu sekitar 8,6% (Dahuri, 1998). Sulawesi Selatan merupakan daerah penghasil rumput laut terbesar di Indonesia salah satunya yaitu kabupaten takalar. Kabupaten Takalar salah satu pusat pengembangan budidaya rumput laut yang tersebar di Sulawesi Selatan. Salah satu kecamatan yang menjadi pusat pengembangan rumput laut yaitu kecamatan Mangarabombang, wilayah tersebut memiliki luas 100,50 km<sup>2</sup> dengan panjang garis pantai yaitu 74 km<sup>2</sup> yang terdiri dalam 12 desa/kelurahan diantaranya Desa Punaga dengan luas wilayah 15.74 km<sup>2</sup> (Wahyu, 2018). Produksi rumput laut memiliki peningkatan setiap tahun, pada periode tahun 2012 sampai 2016 peningkatan produksi yang signifikan, rata-rata peningkatan per tahun yaitu sekitar 5,2% (Qalsum, 2018).

Menurut penelitian O'Connor, Jack, *et al.*, 2020 menyatakan bahwa rumput laut atau yang biasa dikenal dengan makroalga salah satu organisme perairan yang menjadi sumber daya hayati laut. Rumput laut terdiri dari beberapa jenis yaitu rumput laut hijau (*Chlorophyceae*), rumput laut coklat (*Phaeophyceae*), rumput laut merah (*Rhodophyta*), dan rumput laut hijau-biru (*Chyanophyceae*).

Rumput laut yang dibudidayakan memiliki banyak yaitu *Eucheuma cottoni*, *Gracilaria*, *Kappaphycus alvarezii* dan terdapat jenis rumput laut *C. lentillifera* (Ismianti, 2018). Waktu panen pada rumput laut dibudidayakan berkisar antara 45 hari, tetapi lama waktu panen tergantung dari jenis rumput laut, namun pada umumnya yaitu 45 hari/siklus (Bhakti, 2021). Rumput laut kaya akan serat, vitamin dan mineral serta sebagai sumber antioksidan yang alami dan mudah didapatkan. *C. lentillifera* salah satu jenis rumput laut yang berkhasiat (Putri, 2020).

Sanger, Grace, *et al.*, 2018 menyatakan bahwa *C. Lentillifera* merupakan salah satu jenis rumput laut yang termasuk dalam kelompok alga hijau mempunyai pigmen fotosintetik yaitu klorofil a dan b dengan jumlah yang melimpah serta beberapa pigmen asesoris, yaitu karotenoid. Karotenoid utama pada alga hijau diantaranya antheraxanthin, lutein, neoxanthin,  $\beta$ -karoten, zeaxanthin, dan violaxanthin. *C. lentillifera* juga mengandung *caulerpenin* yang menunjukkan bahwa bioaktivitas terhadap sel manusia dan memiliki sifat antikanker, antitumor, dan antiproliferasi.

Protein sangat penting bagi tubuh karena berfungsi sebagai zat pembangun, membentuk jaringan baru, mengganti jaringan yang rusak dan reproduksi. Protein berperan penting dalam pembentukan enzim dan hormon penjaga dan mengatur berbagai proses metabolisme di dalam tubuh (Matanjun *et al.* 2008). Protein dapat pula memanfaatkan unsur karbon yang terkandung didalamnya sebagai sumber energi pada saat kebutuhan energi tidak terpenuhi oleh karbohidrat dan lemak. Pada mutu

protein makanan salah satunya ditentukan yaitu komposisi dan jumlah asam amino esensial dan protein hewani lebih lengkap mengandung asam amino dan lebih banyak dibandingkan dengan protein nabati, oleh karena itu protein hewani mempunyai mutu protein yang lebih baik dibandingkan pada protein nabati (Rusyantia, 2018). Tetapi jika konsumsi sumber protein hewani dalam jumlah yang berlebihan dapat meningkatkan resiko tekanan darah, karena kandungan lemak jenuh dan kolesterolnya lebih tinggi daripada sumber protein nabati (Bertalina, 2016). Selain itu, protein nabati seperti sayur-sayuran lebih murah dari pada protein hewani dan sayur-sayuran lebih mudah didapatkan (Sukowati, 2017). Pada penelitian sebelumnya Mohd Rosni, S., *et al.* 2015 dilakukan ekstraksi protein dari *C. lentillifera* dengan menggunakan ekstraksi konvensional yakni metode fenol dengan kadar protein yang dihasilkan sebanyak 10,22% dari bobot rumput laut kering, akan tetapi metode fenol membutuhkan pelarut yang lebih banyak serta waktu yang lebih lama sehingga diperlukan metode baru yang lebih efisien dari segi waktu, penggunaan pelarut serta dapat menghasilkan kadar protein yang lebih tinggi salah satunya yaitu dengan menggunakan metode ekstraksi *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE).

Pada penelitian ini digunakan metode ekstraksi menggunakan ultrasonik yaitu salah satunya *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE). Ultrasonik merupakan salah satu metode non termal yang dimana dapat meningkatkan laju transfer massa serta memecahkan dinding sel

sehingga dapat mempersingkat waktu proses dan mengoptimalkan penggunaan pelarut (Shirsath SR, 2012). Kelebihan dari metode *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) yaitu pada rumput laut dapat berlangsung lebih cepat karena memanfaatkan gelombang ultrasonik dan gelombang suara dengan frekuensi lebih dari 20 kHz dapat membantu pemecahan dinding sel rumput laut sehingga kandungan senyawa yang terkandung didalam dinding sel dapat keluar dengan mudah. Pada penelitian Wu, Shao-Chi. 2017 membandingkan bahwa metode konvensional dengan metode modern yaitu *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dalam ekstraksi senyawa menggunakan waktu yang lebih singkat, lebih efektif karena efisien dalam mengekstraksi, jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit dan dapat menghasilkan ekstrak yang lebih banyak dibandingkan dengan menggunakan metode konvensional seperti metode ekstraksi fenol.

Penelitian ini menggunakan rancangan *Response Surface Methodology* (RSM) untuk memperoleh kondisi optimum proses ekstraksi protein sehingga dapat digunakan untuk mendapatkan rendamen dan kadar protein yang paling optimal. *Response Surface Methodology* (RSM) merupakan suatu strategi percobaan yang berguna jika respon dipengaruhi beberapa faktor dan tujuan percobaan ialah untuk mencari respon optimum. *Response Surface Methodology* (RSM) mencakup pemilihan rancangan dan mencapai daerah optimum dengan cepat. Dengan menggunakan metode ini berfungsi untuk meningkatkan,

mengembangkan dan mengoptimasi proses penentuan optimum (Trihaditia, 2018). Metode *Response Surface Methodology* (RSM) telah terbukti dapat meningkatkan dan mengoptimalkan proses biokimia untuk mengekstraksi (Hanifah, dkk. 2021).

Oleh karena itu pada penelitian ini, akan dilakukan optimasi proses ekstraksi dari sampel rumput laut *C. lentillifera* secara *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE) dengan menggunakan dua parameter yaitu pH dan waktu ekstraksi terhadap kadar protein dalam ekstrak yang diperoleh.

## **I.2 Rumusan Masalah**

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

## **I.3 Tujuan Penelitian**

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

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **II.1 Alga**

##### **II.1.1 Uraian Umum Alga**

Menurut Subagio dan Kasim (2019), Alga atau ganggang adalah kelompok *thallophyta* yang berklorofil. Berdasarkan ukuran tubuhnya alga dibagi ke dalam dua golongan dasar yaitu mikroalga dan makroalga. Mikroalga adalah spesies uniselular atau multiselular sederhana yang tumbuh secara cepat, dapat bertahan hidup pada kondisi dan lingkungan dengan tekanan ekstrem seperti panas, dingin, anaerob, salinitas, dan paparan radiasi ultraviolet (UV). Selain itu, mikroalga berukuran kecil tidak dapat dilihat oleh mata secara langsung hal ini membutuhkan alat bantu seperti mikroskop. Sedangkan makroalga (rumput laut) umumnya hidup pada habitat laut, merupakan spesies multiselular, namun tidak memiliki akar, batang atau daun yang nyata. Makroalga merupakan alga yang berukuran besar, dari beberapa centimeter sampai bermeter-meter. Makroalga berdasarkan morfologinya tidak memperlihatkan adanya perbedaan antara akar, batang dan daun. Secara keseluruhan tanaman ini memiliki morfologi yang mirip, walaupun ada beberapa yang berbeda. (Palallo,2012) menyatakan bahwa tubuh makroalga umumnya disebut "*thallus*". *Thallus* adalah tubuh vegetatif alga yang belum mengenal diferensiasi akar, batang dan daun sebagaimana yang ditemukan pada

tumbuhan tingkat tinggi. Pada thallus makroalga terdiri atas "*blade*" yang memiliki bentuk seperti daun, "*stipe*" (bagian yang menyerupai batang) dan "*holdfast*" yang merupakan bagian thallus yang serupa dengan akar. Pada beberapa jenis makroalga, "*stipe*" tidak dijumpai dan pada "*blade*" melekat langsung dengan "*holdfast*". Makroalga memiliki manfaat yang sangat banyak yang digunakan dalam bidang industri, obat-obatan, makanan, dan energi. Sehingga terdapat permintaan untuk komoditi makroalga akan semakin meningkat. Untuk memenuhi keperluan tersebut tidak hanya bergantung pada potensi produksi alam saja, tetapi masyarakat dapat melakukan budidaya makroalga, sehingga spesies-spesies makroalga tersebut dapat diketahui potensi dan pengembangan produksinya yang sudah sesuai dengan kebutuhan yang diinginkan (Diansyah 2018). Makroalga adalah tanaman yang memiliki tingkat rendah pada umumnya tumbuh melekat di substrat tertentu seperti karang, lumpur, pasir, batu dan benda keras lainnya. Selain benda mati, makroalga juga dapat melekat pada tumbuhan yang lain secara epifitik. Pertumbuhan makroalga yang tergantung pada substrat mendapat pengaruh langsung dari sedimentasi (Garcia, 2005).

### **II.1.2 Kandungan Alga**

Alga memiliki beberapa karakteristik yang juga dimiliki oleh tumbuhan saat ini seperti pigmen klorofil. Alga secara morfologi dapat terbagi menjadi dua golongan yaitu mikroalga dan makroalga (Diansyah 2018). Berbagai jenis metabolit sekunder yang disintesis dari alga antara

lain xantofil, karotenoid, polifenol, alkaloid, terpenoid, klorofil, vitamin, asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh (Takaichi, 2011; Guven et al., 2010; dan Maschek et al., 2008).

Beberapa spesies alga yang sudah dikonsumsi sebagai makanan dan obat-obatan di Indonesia, salah satu sumberdaya yang ada di perairan Indonesia dimanfaatkan sebagai bahan baku makanan yaitu *Ulva*, *Enteromorpha*, *Caulerpa*. Sumber karaginan, agar, dan alginat yaitu *Eucheuma*, *Gracilaria*, *Gelidium* dan *Sargassum*, di samping itu untuk kebutuhan farmasi, kosmetik dan kertas (Tampubolon, 2013).

### **II.1.3 Kegunaan Alga**

Alga merupakan sumber metabolit sekunder yang potensial untuk dikembangkan menjadi berbagai bahan baku farmasi. Senyawa kimia dalam rumput laut antara lain polisakarida, lipid, protein, alkaloid dan senyawa fenolik (de Almeida et al., 2011). Alga sumber yang menjanjikan untuk berbagai jenis pertumbuhan. Pada umumnya rumput laut digunakan sebagai makanan, pupuk dan juga sebagai obat. Rumput laut mengandung serat, karbohidrat, rendah lemak, mineral, vitamin dan asam amino, sehingga sangat cocok untuk pangan dan bermanfaat bagi kesehatan. Selain itu, kandungan metabolit utama (*phycocolloids*) seperti karagenan, agar dan alginat dapat digunakan sebagai pembentuk gel, stabilisator dan pengental dalam industri makanan, kosmetik dan farmasi. Metabolit lainnya adalah polisulfat polisakarida seperti laminaran, rhamnan sulfat, galaktosil gliserol dan fucoidan yang memiliki efek

antioksidan, antialergi, anti-HIV, antitumor dan antikoagulan (Amaranggana, 2017).

#### **II.1.4 Habitat Alga**

Penyebaran pada jenis rumput laut di perairan disebabkan oleh kecocokan habitatnya. Umumnya habitat rumput laut biasa terdapat pada rata-rata terumbu karang dan menempel pada substrat benda yang keras berupa pecahan karang mati atau kulit kerang. Perairan Indonesia dihuni oleh sekitar 782 alga laut yang terdiri antara 196 jenis alga hijau, 134 jenis alga coklat, dan 452 jenis alga merah. Alga telah lama digunakan oleh manusia sebagai sumber makanan dan obat-obatan. Sebanyak 61 jenis alga telah dimanfaatkan manusia sebagai sumber obat-obatan. Alga tersebut termasuk ke dalam 15 jenis alga hijau, 8 jenis alga coklat, dan 38 alga merah (Winowoda, 2020). Habitat lebih banyak ditemukan pada substrat yang berpasir maupun menempel pada karang dan sering terdapat di zona pasang surut atau intertidal (Langoy, 2011). Habitat makroalga pada umumnya di perairan yang jernih, namun ada beberapa jenis alga laut dapat hidup sampai pada kedalaman 150 m. Alga dapat dijumpai dalam bentuk filamen yang halus dan berbentuk membran sehingga dapat ditemukan pada daerah yang cukup dalam (Meriam, 2016).

## **II.2 *Caulerpa lentillifera***

### **II.2.1 Tinjauan Umum *Caulerpa lentillifera***

Berdasarkan kandungan pigmen dalam *thallus* rumput laut, dapat dibedakan antara alga hijau (*Chlorophyceae*), alga merah (*Rhodophyceae*), dan alga coklat (*Phaeophyceae*). Ketiga golongan ini memiliki nilai ekonomi yang signifikan karena kandungan senyawanya (Soenardjo, 2011). Dalam penelitian ini menggunakan alga hijau yang dimana alga hijau merupakan kelompok terbesar dari vegetasi alga. Alga hijau (*Chlorophyceae*) termasuk dalam divisi alga hijau. Berbeda dengan divisi lain karena mengandung pigmen klorofil a dan b, karotin, xantofil, violastin dan lutein, sehingga memiliki warna hijau jernih seperti tumbuhan tingkat tinggi. Klorofil memberikan warna hijau, diperoleh dari daun dan banyak digunakan untuk makanan. Salah satu contoh alga hijau yaitu *C. lentillifera* (Subagio, 2019).

*C. lentillifera* adalah sejenis alga, tumbuhan ini merupakan organisme multiseluler, yang memiliki genus *Caulerpa* dan family *Caulerpa*. *C. lentillifera* ini biasanya digunakan sebagai sayuran dan sangat populer di pasar internasional karena nilai gizinya yang tinggi. *Caulerpa* juga memiliki kandungan lainnya seperti asam amino, lipid (Magdugo et al., 2020) flavonoid, saponin, fenol, tannin, flobatanin, asam amino protein, senyawa karbohidrat dan beberapa senyawa lainnya (Ragunath, et al., 2020).

*C. lentillifera* memiliki nutrisi yang baik dan dapat dijadikan sebagai bahan makanan fungsional yang sangat baik. *C. lentillifera* juga mengandung karbohidrat, kadar abu dan serat kasar yang tinggi serta lemak yang rendah sehingga sangat cocok untuk dikonsumsi sehari-hari (Santi *et al.* 2012 dan Kumar *et al.* 2011).

### II.2.2 Klasifikasi *Caulerpa lentillifera*

Adapun klasifikasi dari rumput laut *C. lentillifera* sebagai berikut (Indarjo, 2020):



**Gambar 1. *Caulerpa lentillifera* (Dokumentasi Pribadi)**

Kingdom : *Plantae*  
Divisi : *Chlorophyta*  
Kelas : *Chlorophyceae*  
Ordo : *Caulerpales*  
Familiy : *Caulerpaceae*  
Genus : *Caulerpa*  
Spesies : *Caulerpa lentillifera*

### II.2.3 Morfologi

*C. lentillifera* berbentuk seperti thallus berwarna hijau dengan morfologi bercabang tegak. Di bagian puncak cabang *C. lentillifera* terdapat bulatan-bulatan seperti anggur. Habitat *C. lentillifera* menempel pada terumbu karang dengan dalamanan 200 m (Indarjo, 2020). *C. lentillifera* berwarna hijau dan ramuli menyerupai buah anggur (bulat) dengan cabang tegak hingga panjang 8,5 cm. Setiap ramuli memiliki batang berujung bulat dengan diameter 13 mm, yang disebut disebut ramulus atau asimilator, yang berfungsi sebagai tempat fotosintesis (Pulukadan, 2013).

Alga spesies ini merupakan salah satu favorit dari Genus *Caulerpa* yang dapat dimakan, oleh karena teksturnya yang lembut dan berair. Spesies ini juga dikenal dengan sebutan “anggur laut” karena bentuk luarnya seperti anggur, tetapi tidak ada hubungannya dengan anggur yang ada di daratan. *C. lentillifera* banyak ditemukan di zona pasang surut (*intertidal*), tumbuh didasar berpasir yang berlumpur. Alga hijau *C. lentillifera* biasa juga ditemukan di zona *subtidal* dan tumbuh menempel pada karang-karang (Pulukadan, 2013).

### II.2.4 Kandungan Senyawa Kimia

*C. lentillifera* memiliki kandungan senyawa bioaktif yaitu steroid, fenol, saponin, flavonoid dan tanin, yang dapat berfungsi sebagai senyawa antibakteri. Antibakteri terdiri dari senyawa, di antaranya dapat menghambat atau membunuh bakteri dalam jumlah tertentu (Saputri,

2019). *C. lentillifera* juga memiliki pigmen yang dimana zat warna yang selama ini telah banyak memiliki aktifitas biologis seperti antibakteri, antioksidan, antikanker, antifungal, dan lainnya. *Caulerpa* juga mengandung caulerpenin yang bisa menghambat aktivitas  $\alpha$  amilase, sehingga metabolit tersebut dapat digunakan sebagai antidiabetes, antiobesitas dan anti penyakit terkait lainnya (Noor, 2017).

### **II.2.5 Penyebaran *Caulerpa lentillifera***

*Caulerpa* ini dapat ditemukan di daerah tropis dan subtropis, seperti Filipina, Vietnam, Singapura, Malaysia, Thailand, Taiwan, Cina, dan Indonesia (Indarjo, 2020). Makroalga yang biasa dijadikan sebagai sayuran dapat dimakan, salah satunya, yaitu dari genus *Caulerpa*. *Caulerpa*, termasuk dalam Kelas *Chlorophyta* (Alga Hijau), yang memiliki manfaat ekonomis, yaitu dapat bisa dikonsumsi sebagai lauk atau sayuran yang dapat dimakan mentah ataupun matang di daerah-daerah tersebut, seperti Ternate, Makassar, Tidore, Lombok, Bangka dan Bali maupun di negara-negara Jepang, Cina dan Korea. Genus *Caulerpa* dapat juga dijadikan sebagai bahan baku untuk pembuatan obat-obatan (Pulukadan, 2013).

### **II.2.6 Kegunaan *Caulerpa lentillifera***

*C. lentillifera* yang diberi nama lokal sebagai anggur laut. *C. lentillifera* lebih banyak dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai sayur-sayuran atau lalap. *C. lentillifera* diketahui memiliki kandungan

nutrisi yang baik untuk menjadikannya sebagai bahan pangan fungsional (Utami, 2021).

### **II.2.7 Komponen Bioaktif *Caulerpa lentillifera* dan Efek Farmakologi**

*C. lentillifera* memiliki kandungan total senyawa fenolik, yang dimana berdasarkan penelitian Chen, Xiaolin, *et al* (2019) menyatakan bahwa senyawa fenolik memiliki aktivitas pengikatan hidrogen peroksida yang kuat dan pembersihan DPPH yang lemah, aktivitas pereduksi ion besi yang lemah dan aktivitas FIC yang lemah. Selain itu, merangsang sekresi insulin dalam sel pankreas dan meningkatkan penyerapan glukosa dengan menurunkan aktivitas dipeptidyl peptidase-IV, -glucosidase dan protein-tirosin fosfatase 1B menggunakan sel RIN dan 3T3-L1 sebagai model dan mengatur metabolisme glukosa melalui jalur pensinyalan PI3K/AKT di miosit menggunakan sel L6 yang dapat memperbaiki resistensi insulin.

Polisakarida salah satu komponen penting dari *C. lentillifera* karena spektrum aktivitas biologisnya yang luas. *C. lentillifera* menunjukkan sifat antikoagulan dan mengandung siphonaxanthin yang termasuk dalam metabolit lutein. Siphonaxanthin mengandung sistem terkonjugasi dari 8 ikatan rangkap C=C dan 1 gugus keto yang terletak di C-8, mirip dengan fukosantin. Pada posisi C-19, siphonaxanthin memiliki gugus hidroksil yang bermanfaat dari pada karotenoid lainnya. Siphonaxanthin adalah keto-karotenoid spesifik yang terutama ada pada ganggang hijau, seperti: *Codium rapuh*, *C. lentillifera*, *Umbraulva japonica*, dan *Caulerpa*

*racemosa*. Kandungan siphonaxanthin adalah sekitar 0,03%-0,1% dari berat keringnya. Selain itu, juga memiliki sebagian besar fungsi pemanenan cahaya di habitat bawah air yang kaya akan cahaya hijau untuk mengurangi kerusakan. Selain fungsi fisiologisnya, siphonaxanthin telah ditemukan menunjukkan banyak aktivitas biologis seperti pencegahan kanker pada sel leukemia manusia. Aktivitas antikanker siphonaxanthin lebih kuat daripada fucoxanthin dan siphonein yang merupakan bentuk esterifikasi dari siphonaxanthin. Selain itu, siphonaxanthin dapat menunjukkan efek antiobesitas dengan menghambat adipogenesis, siphonaxanthin juga dapat menghambat lipogenesis di hepatosit dengan menekan akumulasi berlebih dari triasilgliserol yang diinduksi oleh agonis reseptor X hati dan faktor transkripsi nuklir yang menurunkan regulasi dengan garis sel HepG2 (Chen, 2019).

## **II.3 Protein**

### **II.3.1 Uraian Umum Protein**

Protein merupakan komponen penting atau komponen utama sel hewan atau manusia. Oleh karena sel itu merupakan pembentuk tubuh, maka protein yang terdapat dalam makanan berfungsi sebagai zat utama dalam pembentukan dan pertumbuhan tubuh. Protein diperoleh dari makanan yang berasal dari hewan atau tumbuhan. Protein yang berasal dari hewan disebut protein hewani, sedangkan yang berasal dari tumbuhan disebut protein nabati. Protein nabati memiliki komposisi protein

tidak selengkap protein hewani. Protein nabati mengandung asam amino esensial tidak selengkap protein hewani. Beberapa asam amino esensial tidak terdapat atau berada pada jumlah kandungan yang kecil pada sumber pangan protein nabati sehingga disebut asam amino pembatas (Swarinastiti, 2018). Beberapa makanan sumber protein ialah daging, telur, susu, ikan, beras, kacang, kedelai, gandum, jagung dan buah-buahan. Beberapa bahan makanan yang mengandung protein serta kadar proteinnya.

Tumbuhan membentuk protein dari  $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  dan senyawa nitrogen. Hewan yang makan tumbuhan mengubah protein nabati menjadi protein hewani. Protein juga dapat digunakan sebagai sumber energi apabila tubuh kekurangan karbohidrat dan lemak. Adapun komposisi rata-rata unsur kimia yang terdapat dalam protein ialah sebagai berikut: Karbon 50%, Hidrogen 7%, Oksigen 23%, Nitrogen 16%, Belerang 0-3%, Fosfor 0-3%. Pada kadar nitrogen sebesar 16% dapat dilakukan penentuan kandungan protein dalam suatu bahan makanan atau tumbuhan. Unsur nitrogen ditentukan dengan cara kuantitatif, salah satunya menggunakan metode Kjeldahl yaitu dengan cara destriksi dengan asam pekat. Berat protein yang ditentukan ialah 6,25 kali berat unsur nitrogen.

Kandungan protein terdapat bahan-bahan organik yang ditentukan dengan cara langsung mendeteksi sifat kimia dan sifat fisik tertentu yang ada pada protein dan juga dapat menentukan kandungan nitrogen pada

protein. Salah satunya yaitu metode Kjeldahl untuk penentuan nitrogen pada protein (Syarifuddin, 2020). Pada penelitian ini metode yang digunakan dalam penetapan kadar protein pada sampel rumput laut *C. lentillifera* yaitu adalah metode Kjeldahl. Metode Kjeldahl merupakan metode yang mempunyai banyak kelebihan yaitu selektif hanya digunakan untuk mengukur senyawa-senyawa yang mengandung unsur nitrogen, akurat yaitu dapat menghasilkan nilai rata-rata dan praktis artinya dikerjakan secara sederhana, memerlukan sampel dan reagen yang sedikit (Maryani, 2018).

### **II.3.2 Sumber Protein**

Sumber protein dapat dibedakan menjadi dua bagian yaitu terdapat protein nabati dan protein hewani. Pada sumber protein hewani terdiri dari ikan, daging, telur, susu, dan kerang. Susu dan telur termasuk sumber protein yang berkualitas tinggi, tetapi pada ikan, kerang, dan udang merupakan kelompok sumber protein yang baik karena rendah lemak dan berbeda pada daging jika dalam jumlah yang berlebihan dapat meningkatkan resiko tekanan darah, karena kandungan lemak jenuh dan kolesterolnya, sedangkan pada sumber protein nabati terdiri dari jamur, padi-padian, kacang-kacangan (kedelai, kacang tanah, kacang hijau, dll) serta hasil olahan makanan seperti tempe, tahu, dll. Asam amino yang terkandung dalam protein ini selengkapnya seperti protein hewani, namun saling melengkapi kandungan proteinnya dengan menambahkan bahan lain, yaitu dengan mencampurkan dua atau lebih sumber protein jenis

asam amino terbatas yang berbeda. Jika dua jenis protein yang memiliki jenis asam amino esensial pembatas yang berbeda dikonsumsi bersamaan, maka akan terjadi kekurangan asam amino dari satu protein tersebut, hal ini dapat ditutupi oleh asam amino sejenis yang berlebihan pada protein lain. Nilai gizi dari campuran maka lebih tinggi dari kedua protein tersebut karena kedua protein saling melengkapi. Contohnya seperti campuran 1:1 antara kacang-kacangan dan tepung gandum yang akan membentuk bahan makanan campuran sehingga dapat meningkatkan mutu protein dan sangat baik untuk pertumbuhan (Sri Wahjuni, 2014)

### **II.3.3 Fungsi Protein**

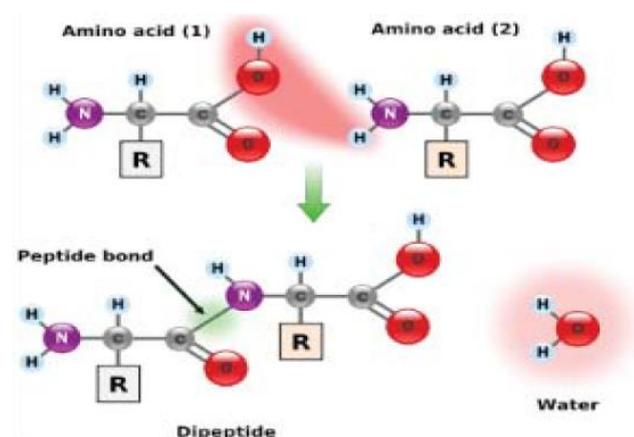
Fungsi utama pada protein yaitu dibutuhkan untuk perkembangan, pertumbuhan, pembentukan otot, pembentukan sel-sel darah merah, pertahanan tubuh terhadap penyakit, enzim dan hormon, dan sintesis jaringan-jaringan tubuh lainnya. Protein akan dicerna menjadi asam-asam amino, kemudian dapat membentuk protein tubuh di dalam otot dan jaringan lain. Protein bertindak sebagai sumber energi ketika asupan karbohidrat tidak mencukupi, seperti selama diet ketat atau aktivitas fisik yang intens. Sebaiknya, sekitar 15% total kalori yang digunakan berasal dari protein (Rismayanthi, 2006).

### **II.3.4 Struktur Protein**

Molekul protein adalah rantai panjang yang terdiri dari rantai asam amino. Dalam molekul protein, reaksi antara gugus karboksil dari satu

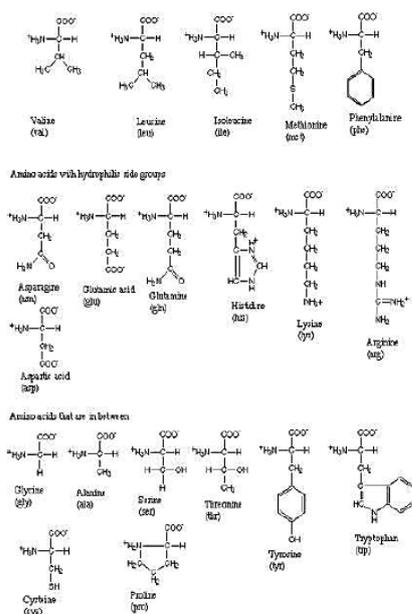
asam amino dan gugus amino dari asam amino lain mengikat asam amino, menghasilkan ikatan yang disebut ikatan peptida. Ikatan peptida ini bisa disebut dengan ikatan tingkat primer. Jika terdapat dua molekul asam amino yang saling terikat maka disebut ikatan dipeptida dan jika tiga molekul asam amino disebut ikatan dipeptida. Bila ada tiga molekul asam amino disebut tripeptida, dan lebih dari tiga disebut polipeptida. Polipeptida yang hanya tersusun dari beberapa molekul asam amino disebut oligopeptida. Molekul protein adalah polipeptida di mana banyak asam amino terikat oleh ikatan peptida (Sri Wahjuni, 2014).

Protein dapat diartikan sebagai senyawa makromolekul polipeptida dengan berat molekul tinggi dan terdiri dari sejumlah asam amino yang dihubungkan oleh ikatan peptida. Ada beberapa asam amino dalam, tetapi sampai sekarang diketahui bahwa protein pada dasarnya hanya terdiri dari 20-21 macam asam amino yang khas. Hal ini kecuali prolin dan hidroksiprolin, semua asam amino pembangun protein memiliki satu gugus pada atom C primer berdampingan dengan salah satu gugus karboksi, yang disebut sebagai asam amino- $\alpha$  (Sri Wahjuni, 2014).



Gambar 2. Struktur Ikatan Protein (Sri Wahjuni, 2014).

Selain itu setiap asam amino memiliki gugus R yang berbeda dan khas yang memberikan sifat unik bagi asam amino. Dalam molekul protein asam amino terikat satu sama lain oleh ikatan peptida yaitu ikatan yang terbentuk antara gugus amin asam amino satu dengan gugus karboksil unit asam amino. Pada jumlah struktur dan susunan semuanya residu asam amino dalam sebuah polipeptida diketahui, struktur primier polipeptida tersebut terlihat jelas. Asam amino yang gugus  $\alpha$ -karboksilatnya ikut terlihat dalam pembentukan ikatan peptida disebut sebagai "residu aminoasi". Residu ini diberi nama dengan menggantikan akhiran *-at* atau *-in* pada asam amino bebas dengan akhiran *-il*, contohnya seperti tirosin*il*, aspartil, alanil. Peptida yang diberi nama sebagai derivat residu aminoasil dengan gugus terminal karboksil yaitu tetrapeptida Lys-Leu-Tyr-Gln ini adalah derivat glutamin, dan disebut dengan lis*il* – leus*il* – tirosin*il* – glutamin*in*. Akhiran *-in* pada glutamin yang menandakan adanya  $\alpha$ -karboksilnya yang tidak terlibat dalam pembentukan ikatan peptida (Sri Wahjuni, 2014).



Gambar 3. Asam-asam amino Pembangun Protein (Sri Wahjuni, 2014).

### II.3.5 Penggolongan Protein

Protein ditinjau dari strukturnya dapat dibagi dalam dua golongan besar, yaitu golongan protein sederhana dan protein gabungan. Yang dimana protein sederhana merupakan protein yang hanya tersusun atas molekul-molekul asam amino, sedangkan pada protein gabungan merupakan protein yang tersusun atas protein dan gugus bukan protein. Gugus ini disebut gugus prostetik dan terdiri dari lipid, karbohidrat, dan asam nukleat (Poedjiadi, A, 2006).

Pada protein sederhana dapat dibagi menjadi dua berdasarkan bentuk molekulnya, yaitu protein fiber dan protein globular. Protein fiber memiliki bentuk molekul panjang seperti serat atau serabut, sedangkan pada protein globular memiliki bentuk bulat. Selain itu, pada protein gabungan ialah protein yang berikatan dengan senyawa yang bukan protein. Gugus yang bukan protein ini disebut gugus prostetik, ada

beberapa jenis protein gabungan yaitu glikoprotein, lipoprotein, mukoprotein, dan nukleoprotein (Poedjiadi, A, 2006).

### **II.3.6 Fungsi dan Peranan Protein**

Protein juga dapat berfungsi sebagai pelindung, seperti antibodi yang membentuk jika tubuh kemasukan zat asing, serta sebagai sistem kendali dalam bentuk hormon, protein pembangun misalnya glikoprotein yang terdapat dalam dinding sel, keratin yang terdapat pada kuku, kulit dan rambut. Protein dalam bentuk enzim berperan sebagai katalis dalam macam-macam proses biokimia. Sebagai alat transport, yaitu protein hemoglobin mengikat oksigen dalam bentuk (Hb-O) ke seluruh bagian tubuh (Abdul Hamid, 2005).

Protein dalam tinjauan kimia merupakan senyawa organik yang kompleks berbobot molekul tinggi berupa polimer dengan monomer asam amino yang dapat dihubungkan dengan ikatan peptida. Molekul protein mengandung karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen dan sulfur serta fosfor. Protein juga salah satu sumber gizi, protein berperan sebagai sumber asam amino bagi organisme yang tidak mampu membentuk asam amino (Abdul Hamid, 2005).

### **II.4 *Ultrasonic Assisted Extraction* (UAE)**

*Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) merupakan salah satu teknik ekstraksi yang menggunakan gelombang ultrasonik dan menggunakan pelarut organik. Ultrasound adalah gelombang suara dengan frekuensi yang lebih tinggi (>20 KHz) dari pendengaran manusia. Keuntungan

utama ekstraksi berbantuan ultrasonik dibandingkan ekstraksi tradisional adalah konsumsi energi yang lebih rendah dan waktu pengoperasian yang lebih singkat. Dengan menggunakan metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) berbantu gelombang ultrasonic sedikit membutuhkan pelarut, suhu, dan energi rendah serta ramah lingkungan. Ekstraksi yang berbantu gelombang ultrasonik memerlukan waktu yang lebih singkat dan dapat menghasilkan yield produk yang lebih banyak. Adapun beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ekstraksi berbantu gelombang ultrasonic yaitu waktu, suhu, dan konsentrasi pelarut yang digunakan (Baihaqi, *et al.* 2018).

Salah satu keunggulan metode ekstraksi *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) adalah mempercepat proses ekstrak, kemampuannya untuk menghilangkan ekstrak dari matriks tanpa merusak struktur ekstrak, selain itu peningkatan laju kontak antara ekstrak dan pelarut meningkatkan penetrasi cairan ke dalam dinding sel dan pelepasan komponen seluler. Dengan menggunakan gelombang ultrasonik, proses ekstraksi senyawa organik pada tanaman dan biji-bijian dapat dilakukan lebih cepat dengan pelarut organik (Handaratri, 2019). Ghasempou *et al.*, 2019 menyatakan bahwa gelombang ultrasonik menguraikan molekul polimer besar, menghasilkan ekstraksi yang lebih efisien. Ini lebih unggul daripada metode maserasi.



**Gambar 4. Rangkaian Alat *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE) (Dokumentasi Pribadi)**

## **II.5 *Response Surface Methodology* (RSM)**

*Response Surface Methodology* (RSM) merupakan suatu metode matematika dan statistik yang membantu menganalisis masalah bahwa beberapa variabel independent mempengaruhi variabel respon dan tujuannya adalah untuk mengoptimalkan respon. Pada dasarnya metode ini untuk menemukan nilai optimal pada jawaban menggunakan desain eksperimen yang didukung secara statistik. Metode ini pertama kali diusulkan pada tahun 1951 dan masih banyak digunakan baik dalam penelitian maupun aplikasi industri. Peneliti dapat mengetahui nilai variabel-variabel independent yang menyebabkan nilai variabel respon menjadi optimal. *Response Surface Methodology* (RSM) suatu strategi eksperimental yang berguna ketika respons dipengaruhi oleh banyak faktor dan tujuan eksperimen adalah untuk menemukan respons yang optimal. *Response Surface Methodology* (RSM) mencakup masalah-masalah seperti, memilih desain eksperimen yang tepat untuk optimasi

dan prosedur untuk mencapai wilayah optimal dengan cepat. Metode ini digunakan untuk mengembangkan, meningkatkan, dan mengoptimalkan proses untuk menentukan yang terbaik (Trihaditia, 2018).

Pada desain eksperimental ketika memilih dapat dipastikan bahwa semua variabel yang diteliti dilakukan setidaknya di tiga tingkat faktor. Pada analisis 2 variabel paling banyak digunakan yaitu *Central Composite Design* yang merupakan desain eksperimental orde dua simetris. Hal ini dikarenakan pada desain dapat memberikan hasil yang optimal melalui efisiensi analisisnya yang tinggi untuk menggunakan 2 variabel (Bezerra, *et al.* 2008).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **III.1 Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan adalah timbangan analitik, erlenmeyer, gelas ukur, corong, botol coklat, beaker, oven HERBS dryer, alat penggiling, buret, sentrifuse dingin, *magnetic stirrer*, *hot plate*, pH meter, thermometer, labu Kjeldahl, labu tentukur, statif dan klem, lemari asam, lemari pendingin, *freeze dryer*, sonikator dan alat-alat standar.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu, *C. lentillifera*, kertas saring, kertas perkamen, *aquadest*, amonium sulfat, asam sulfat pekat, NaOH 10%, larutan H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 3%, larutan HCl 0,0103 N, metil merah, heksana, water one, HCl 0,1, M dan NaOH 0,1 M.

#### **III.2 Determinasi Tanaman**

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

#### **III.3 Metode Kerja**

##### **III.3.1 Penyiapan Sampel**

Sampel rumput laut *C. lentillifera* diambil sebanyak 3,5kg yang diperoleh dari Desa Punaga Kabupaten Takalar Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel disortasi basah, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan menggunakan sinar matahari selama 2 hari, setelah itu dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50°C