



OPTIMASI EKSTRAKSI KARAGENAN DARI *Kappaphycus alvarezii* BERBANTU METODE ENZIM SELULASE DAN GELOMBANG ULTRASONIK

**Amalia Nur Kumalaningrum^{1*}, Crescentiana Dewi Poeloengasih³,
Muhammad Fachrul Azhary², Ni'matus Sholihah¹, Tatia Asnur Syafitri¹,
Hana Sabillah¹, Bangun Garuda Nusantara¹, Debora Ayu Christyandari³**

¹Program Studi Teknologi Pangan, Jurusan Sains Teknologi Pangan dan Kemaritiman,
Institut Teknologi Kalimantan

Jalan Soekarno Hatta No.KM 15, Balikpapan Indonesia 76127

²Program Studi Teknik Kimia, Jurusan Teknologi Industri dan Proses, Institut Teknologi Kalimantan

Jalan Soekarno Hatta No.KM 15, Balikpapan Indonesia 76127

³Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional
Playen, Gunungkidul, Yogyakarta Indonesia 55861

Diterima: 20 Desember 2024/Disetujui: 27 Februari 2025

*Korespondensi: amalia.nur@lecturer.itk.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Kumalaningrum, A. N., Poeloengasih, C. D., Azhary, M. F., Sholihah, N., Syafitri, T. A., Sabillah, H., Nusantara, B. G., & Christyandari, D. A. (2025). Optimasi ekstraksi karagenan dari *Kappaphycus alvarezii* berbantu metode enzim selulase dan gelombang ultrasonik. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(2), 187-209. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v28i2.61454>

Abstrak

Karagenan merupakan polisakarida bernilai ekonomi tinggi yang diperoleh dari alga merah sebagai bahan pengental maupun penstabil diberbagai industri. Metode ekstraksi karagenan yang umum digunakan di industri melibatkan proses alkali panas dengan waktu cukup panjang sehingga tidak efisien dan menghasilkan banyak limbah. Oleh karena itu, perlu teknik ekstraksi yang dapat meningkatkan efisiensi dan mengurangi dampak lingkungan. Penelitian ini bertujuan menentukan kondisi optimum ekstraksi kappa-karagenan *K. alvarezii* menggunakan metode UACE berdasarkan persentase rendemen dan kualitas fisikokimia. Variabel yang diamati pada penelitian ini adalah rasio pelarut dan rumput laut (20–100 mL/g), konsentrasi enzim selulase (2–10%) dan waktu ultrasonikasi (20–100 menit). Karagenan dari *K. alvarezii* yang telah mendapatkan praperlakuan selanjutnya diekstrak pada suhu 80-90°C selama 30 menit, dikarakterisasi dan dibandingkan dengan karagenan murni sesuai SNI 8391-1:2017. Kenaikan rasio pelarut:rumpun laut, jumlah enzim dan waktu ultrasonik dapat menaikkan rendemen karagenan hingga mencapai 62%. Karagenan yang dihasilkan memiliki warna yang lebih gelap dibandingkan karagenan komersial. Karagenan memiliki kadar air, sulfat, viskositas, kandungan logam berat sesuai SNI, sedangkan kadar abu dan abu tak larut asam melebihi SNI serta kekuatan gel dari karagenan masih di bawah SNI. Karagenan masih mengandung unsur N yang menunjukkan ketidakmurnian karagenan. Hasil spektrum FTIR menunjukkan bahwa karagenan yang diperoleh merupakan jenis kappa-karagenan. Penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk mengevaluasi pengaruh UACE sebagai perlakuan awal dalam proses ekstraksi karagenan sehingga tidak hanya meningkatkan jumlah karagenan, tetapi juga mutu karagenan yang dihasilkan.

Kata kunci: kappa-karagenan, praperlakuan, rendemen, sulfat, viskositas

Optimization of Carrageenan Extraction from *Kappaphycus alvarezii* using Ultrasonic-assisted Cellulase Extraction (UACE)

Abstract

Carrageenan is a high economic value polysaccharide obtained from red algae as a thickener and stabilizer in various industries. The extraction method of carrageenan commonly used in industry involves a hot alkaline process with a long time, which is inefficient and produces a lot of waste. Consequently, we require an extraction method that enhances efficiency and minimizes environmental effects. The goal of this study is to find the best conditions for extracting kappa-carrageenan from *K. alvarezii* using the UACE method, considering the quality and percentage of yield. The variables observed in this study were solvent and seaweed ratio (20-100 mL/g), cellulase enzyme concentration (2-10%), and ultrasonication time (20-100 min). The pretreated carrageenan from *K. alvarezii* was extracted at 80-90°C for 30 min, characterized, and compared with pure carrageenan according to SNI 8391-1:2017. Increasing the solvent:seaweed ratio, enzyme amount, and ultrasonic time can increase the carrageenan yield up to 62%. However, the carrageenan produced has a darker color than commercial carrageenan. Carrageenan has water content, sulfate, viscosity, heavy metal content according to SNI, while ash content and acid insoluble ash exceed SNI and gel strength of carrageenan is still below SNI. Carrageenan still contains the element N, which indicates the impurity of carrageenan. The results of the FTIR spec-trum showed that the carrageenan obtained was of the kappa-carrageenan type. Further research is required to determine the effects of UACE as a pretreatment in the extraction of carrageenan. The objective is to identify methods for producing increased quantities and enhancing the quality of carrageenan.

Keywords: kappa-carrageenan, pretreatment, sulfate, viscosity, yield

PENDAHULUAN

Karagenan merupakan polisakarida hidrokoloid bernilai ekonomi tinggi yang dapat diekstrak dari alga merah (Rhodophyceae) jenis *Kappaphycus alvarezii* (*Eucheuma cottonii*), *Eucheuma spinosum* dan *Chondrus crispus* dengan aplikasi di bidang farmasi, kimia, pangan dan bioteknologi sebagai pembentuk gel, penstabil, pengental, pensuspensi, dan pembentuk tekstur emulsi (Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia [KKP], 2023; Bui, 2019). Karagenan telah banyak diteliti dan diaplikasikan yaitu cangkang kapsul keras (Suptijah *et al.*, 2012; Tarman *et al.*, 2024), pangan (Palupi *et al.*, 2020; Mandiri *et al.*, 2022), kosmetik (Sujuliyani *et al.*, 2021), *edible coating* (Nurdiani *et al.*, 2024; Suharto *et al.*, 2024), dan *edible film* (Qotimah *et al.*, 2020). Spektrum penggunaan karagenan yang luas menyebabkan kebutuhan karagenan di dunia terus mengalami peningkatan selama dua dekade terakhir dari 30.000-ton pada tahun 1999 meningkat menjadi 45.000-ton pada tahun 2009 dan mencapai 67.218-ton pada tahun 2019 (Zhang *et al.*, 2024). Grand Review Research (2023) dalam Zhang *et al.* (2024) melaporkan bahwa karagenan merupakan hidrokoloid dengan nilai ekonomi

tinggi kedua setelah agar-agar dengan harga mencapai USD \$11,27 per kilogram.

Berdasarkan jenis rumput laut, jumlah dan posisi gugus ester sulfat serta kadar 3,6-anhidroglaktosa, karagenan dibagi menjadi tiga jenis, yaitu kappa-karagenan (κ -karagenan), iota-karagenan (ι -karagenan) dan lambda-karagenan (λ -karagenan) (Imeson, 2009). Kappa-karagenan merupakan jenis karagenan yang paling banyak diproduksi dan digunakan di berbagai sektor. Kappa-karagenan diproduksi dari *K. alvarezii*, salah satu jenis alga merah yang banyak dibudidayakan di Indonesia secara ekstensif.

Hingga saat ini industri karagenan masih menggunakan metode alkali panas dan presipitasi menggunakan etanol untuk mengekstrak karagenan. Metode ini banyak digunakan karena dapat meningkatkan sifat mekanik dari karagenan yang dihasilkan (Distantina *et al.*, 2012). Namun metode ini memiliki beberapa kelemahan, yaitu konsumsi air yang tinggi selama proses pembersihan, konsumsi energi tinggi dan waktu proses yang lama, serta menghasilkan limbah air dalam jumlah yang besar, sehingga membatasi perkembangan industri pengolahan karagenan (Villanueva *et al.*, 2009). Perlakuan alkali pada suhu tinggi dalam jangka waktu lama juga



dapat menyebabkan degradasi polisakarida (Ramadhan *et al.*, 2022). Oleh karena itu, perlu dilakukan eksplorasi metode alternatif ekstraksi karagenan dengan menggunakan teknologi baru yang menawarkan hasil ekstraksi lebih banyak, karagenan dengan karakteristik lebih baik dengan waktu ekstraksi yang lebih pendek, konsumsi energi yang lebih rendah dan lebih ramah lingkungan.

Ekstraksi berbantu gelombang ultrasonic atau *Ultrasound-assisted Extraction* (UAE) merupakan suatu teknik ekstraksi inovatif yang banyak dikembangkan selama beberapa tahun terakhir karena keunggulannya dibandingkan teknik ekstraksi konvensional. Teknik ekstraksi ini unggul dalam penggunaan pelarut yang lebih sedikit dan waktu ekstraksi yang lebih singkat (Wang *et al.*, 2020), reaksi kimia yang lebih cepat (Ren *et al.*, 2014), instrumen yang lebih sedikit (Carreira-Casais *et al.*, 2021) dan lebih ramah lingkungan, sehingga meningkatkan efisiensi proses ekstraksi. Teknik ekstraksi ini memanfaatkan efek kavitasi akustik pada media ekstraksi (Kumar *et al.*, 2021) untuk merusak dinding sel, sehingga senyawa atau komponen target akan terdifusi ke dalam pelarut (Chemat *et al.*, 2017). Metode ekstraksi berbantu gelombang ultrasonik ini telah banyak diterapkan untuk mengekstraksi protein (Zhao *et al.*, 2023), polisakarida (Chen *et al.*, 2023), polifenol dan flavonoid (Vo *et al.*, 2023), karotenoid (Dianursanti *et al.*, 2020), kurkuminoid (Rosarina *et al.*, 2022) dan polisakarida dari matriks tanaman, misalnya pektin (Cui *et al.*, 2021). Metode ini telah diterapkan untuk mengekstraksi polisakarida maupun komponen bioaktif yang berasal dari rumput laut, yaitu ulvan dari alga hijau *Ulva lactuca* (Ramadhan *et al.*, 2022), alginat dari alga cokelat *Ecklonia maxima* (van Sittert *et al.*, 2024), karagenan (Rafiquzzaman *et al.*, 2017; Mendes *et al.*, 2024), agar-agar dari alga merah *Gracilaria spp.* (Uju *et al.*, 2018), polifenol dan florotanin dari alga cokelat (Ummat *et al.*, 2020).

Ekstraksi berbantu enzim atau *Enzymatic-assisted Extraction* (EAE) merupakan strategi baru dalam teknologi ekstraksi. Metode ini menggunakan enzim-

enzim tertentu yang secara spesifik akan merusak struktur membran sel melalui proses hidrolisis polisakarida penyusun membran sel dan mendorong pelepasan komponen target, sehingga meningkatkan jumlah senyawa target pada suatu proses ekstraksi (Huang *et al.*, 2021). Enzim-enzim misalnya pektinase, β -glukonase, β -glukosidase, selulase dan xylanase banyak digunakan pada proses ekstraksi berbantu enzim ini (Iqbal *et al.*, 2021). Qian (2014) bahkan secara khusus mempelajari penggunaan enzim selulase pada ekstraksi polisakarida dari labu kuning. Metode ekstraksi berbantu enzim bersifat selektif, ramah lingkungan dan sangat cocok untuk bahan dengan kadar air tinggi, namun metode ini memerlukan waktu proses yang lebih lama. Metode ini telah diaplikasikan untuk mengekstraksi ulvan dari alga hijau *Ulva fenestrata* (Romero *et al.*, 2023), karagenan dari *K. alvarezii* (Tarman *et al.*, 2020; Duan *et al.*, 2016), senyawa flavonoid (Yin *et al.*, 2023), lipid dari alga hijau *Caulerpa lentillifera* (Hanifah *et al.*, 2021), polisakarida tanaman (X. Wang *et al.*, 2023), antosianin dari kulit buah anggur (Munoz *et al.*, 2004), karotenoid dari labu, dan senyawa fenol dari biji anggur (Stambuk *et al.*, 2016). Namun kelemahan metode ini terletak pada harga enzim yang cukup tinggi, sehingga membatasi pengembangan metode ini. Hal tersebut dapat diantisipasi dengan penggunaan ulang enzim atau bersinergi dengan metode ekstraksi lainnya (Marić *et al.*, 2018).

Sinergi metode ekstraksi dapat mengatasi beberapa keterbatasan dan dapat mengarah pada peningkatan efisiensi proses secara keseluruhan. Nadar & Rathod (2017) melaporkan bahwa sinergi UAE dan EAE dapat meningkatkan aktivitas enzim pada kondisi optimal. Hal tersebut akan mengakibatkan perubahan struktur molekul enzim selulase, sehingga memengaruhi kinetika dan termodinamika selama proses ekstraksi (Subhedar & Gogate, 2014). Metode ini tidak hanya dapat mengurangi waktu proses ekstraksi, namun juga dapat meningkatkan kualitas ekstrak yang diperoleh (Wang *et al.*, 2021). Sinergi antara EAE dan UAE dapat meningkatkan hasil ekstraksi

fukoidan dari alga cokelat *Nizamuddinina zanardinii* (Alboofetileh *et al.*, 2019) dan senyawa phenol dari alga cokelat *Saccharina muticum* (Casas *et al.*, 2019). Penelitian secara khusus menggabungkan metode UAE dan EAE menggunakan enzim selulase atau yang disebut sebagai *Ultrasonic-assisted cellulase extraction* (UACE) pada ekstraksi polisakarida, antioksidan ataupun protein telah dilaporkan pada beberapa proses ekstraksi, yaitu ekstraksi protein dari daun mulberry (Zhao *et al.*, 2023) dan ekstraksi senyawa antioksidan dari buah markisa (Wang *et al.*, 2021). Namun, metode ini masih jarang digunakan untuk mengekstrak polisakarida dari alga. Penggunaan metode UACE telah diaplikasikan pada ekstraksi alginat dari alga cokelat *E. maxima* (van Sittert *et al.*, 2024). Namun hingga saat ini belum terdapat hasil penelitian yang melaporkan mengenai aplikasi UACE pada ekstraksi kappa-karagenan dari alga merah *K. alvarezii*. Penggunaan UACE pada ekstraksi kappa-karagenan diperkirakan dapat mengintensifkan proses perusakan struktur membran sel, sehingga akan diperoleh rendemen kappa-karagenan yang lebih banyak. Penelitian ini bertujuan menentukan kondisi optimum ekstraksi kappa-karagenan *K. alvarezii* menggunakan metode UACE berdasarkan persentase rendemen dan kualitas fisikokimia.

BAHAN DAN METODE

Preparasi Rumput Laut *K. alvarezii*

Rumput laut *K. alvarezii* diperoleh dari Pantai Teritip, Kelurahan Teritip, Kecamatan Balikpapan Timur, Kota Balikpapan. Rumput laut dicuci bersih menggunakan air tawar untuk menghilangkan semua pengotor dan biota asing, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selama 2 hari. Rumput laut kering selanjutnya digiling untuk memperoleh serbuk rumput laut kemudian diayak menggunakan ayakan 80 mesh untuk mendapatkan tepung rumput laut yang halus. Tepung rumput laut yang belum lolos ayakan 80 mesh digiling kembali, sedangkan tepung rumput laut lolos ayakan 80 mesh dikemas dalam kantong plastik dan disimpan dalam kemasan kedap udara untuk selanjutnya digunakan pada penelitian ini.

Analisis Pengaruh Praperlakuan

Perlakuan pendahuluan (praperlakuan) dilakukan untuk mengevaluasi dampaknya terhadap efisiensi proses ekstraksi karagenan. Perlakuan yang diterapkan meliputi metode enzimatis menggunakan enzim selulase komersial (700 EGU/g, $\rho = 1,22 \text{ g/mL}$), metode mekanis dengan ultrasonikasi menggunakan *ultrasonic bath* (Elmasonic P 60H, Jerman), serta metode kombinasi enzimatis berbantu ultrasonikasi. Karagenan dari rumput laut *K. alvarezii* yang telah mendapatkan perlakuan pendahuluan kemudian diekstraksi menggunakan metode pemanasan pada suhu 80-90°C selama 30 menit. *K. alvarezii* tanpa metode praperlakuan digunakan sebagai kontrol. Metode yang menghasilkan rendemen karagenan tertinggi akan dikembangkan lebih lanjut. Diagram alir pada tahap ini dapat dilihat pada *Figure 1*.

Optimasi Ekstraksi Karagenan secara Enzimatis Berbantu Ultrasonikasi

Optimasi ekstraksi karagenan secara berbantu enzimatis dan ultrasonikasi mengacu pada (Duan *et al.*, 2016) dengan modifikasi variabel terikat rasio pelarut dan rumput laut (20, 40, 60, 80, 100 mL/g), konsentrasi enzim selulase (2, 4, 6, 8, 10%) dan waktu ultrasonikasi (20, 40, 60, 80, 100 menit). Optimasi untuk setiap variabel dilakukan secara bertahap. Variabel diuji satu per satu, sementara variabel lainnya dijaga tetap konstan. Kondisi optimal pada setiap tahap ditentukan berdasarkan rendemen karagenan tertinggi yang diperoleh. Tahap pertama optimasi dilakukan terhadap rasio pelarut dan rumput laut dengan menggunakan enzim selulase sebesar 6% dan waktu ultrasonikasi 20 menit. Selanjutnya, pada tahap kedua, optimasi konsentrasi enzim selulase dilakukan dengan menggunakan rasio pelarut dan rumput laut yang menghasilkan rendemen tertinggi dari tahap pertama, serta waktu ultrasonikasi tetap 20 menit. Tahap ketiga, optimasi waktu ultrasonikasi dilakukan dengan menggunakan rasio pelarut dan rumput laut serta konsentrasi enzim selulase yang memberikan rendemen tertinggi pada tahap sebelumnya.

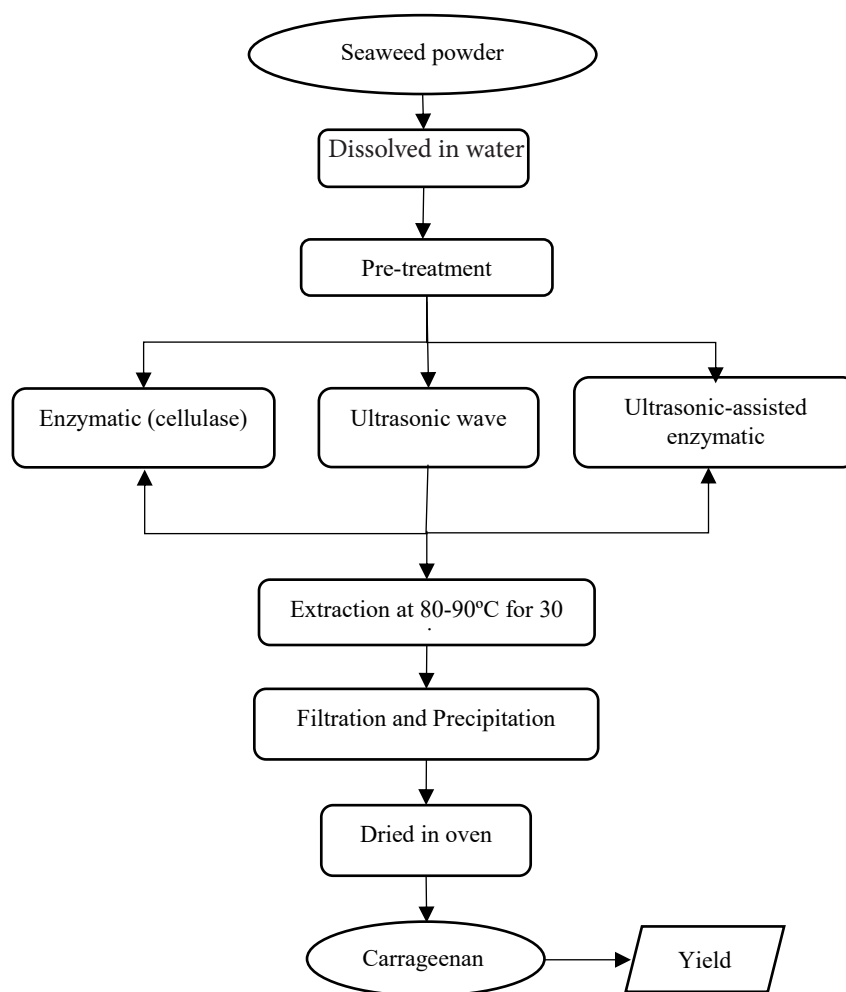


Figure 1 Flowchart of analysis of the effect of different pretreatments
Gambar 1 Diagram alir analisis pengaruh praperlakuan yang berbeda

Karagenan dari rumput laut *K. alvarezii* yang telah mendapatkan perlakuan pendahuluan selanjutnya diekstrak menggunakan metode pemanasan pada suhu 80-90°C selama 30 menit. Selanjutnya dalam kondisi panas dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan ampas. Setelah filtrat menjadi dingin, presipitasi karagenan dilakukan dengan menambahkan larutan KCl 2,5% (Pudak Scientific, Indonesia) pada rasio 1:1 (v/v) diikuti penambahan etanol dingin (teknis, 96%, PT Laksana Kahuripan Raya, Indonesia) pada rasio 1:2 (v/v). Presipitat yang terbentuk dipisahkan dan dikeringkan pada suhu 50°C selama 24 jam. Karagenan yang diperoleh selanjutnya digiling hingga diperoleh serbuk karagenan dan dikarakterisasi. Diagram alir optimasi

ekstraksi karagenan menggunakan metode berbantu enzimatis dan ultrasonikasi dapat dilihat pada *Figure 2*.

Rendemen

Rendemen dinyatakan sebagai persentase karagenan yang terekstrak dari sampel, dihitung sebagai berat karagenan yang diperoleh dibagi dengan rumput laut yang digunakan dikalikan 100% sesuai dengan rumus di bawah ini (Firdaus *et al.*, 2021):

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{massa karagenan}}{\text{massa rumput laut}} \times 100\%$$

Analisis Warna

Kromameter (Minolta CR400, Jepang) digunakan untuk mengevaluasi warna

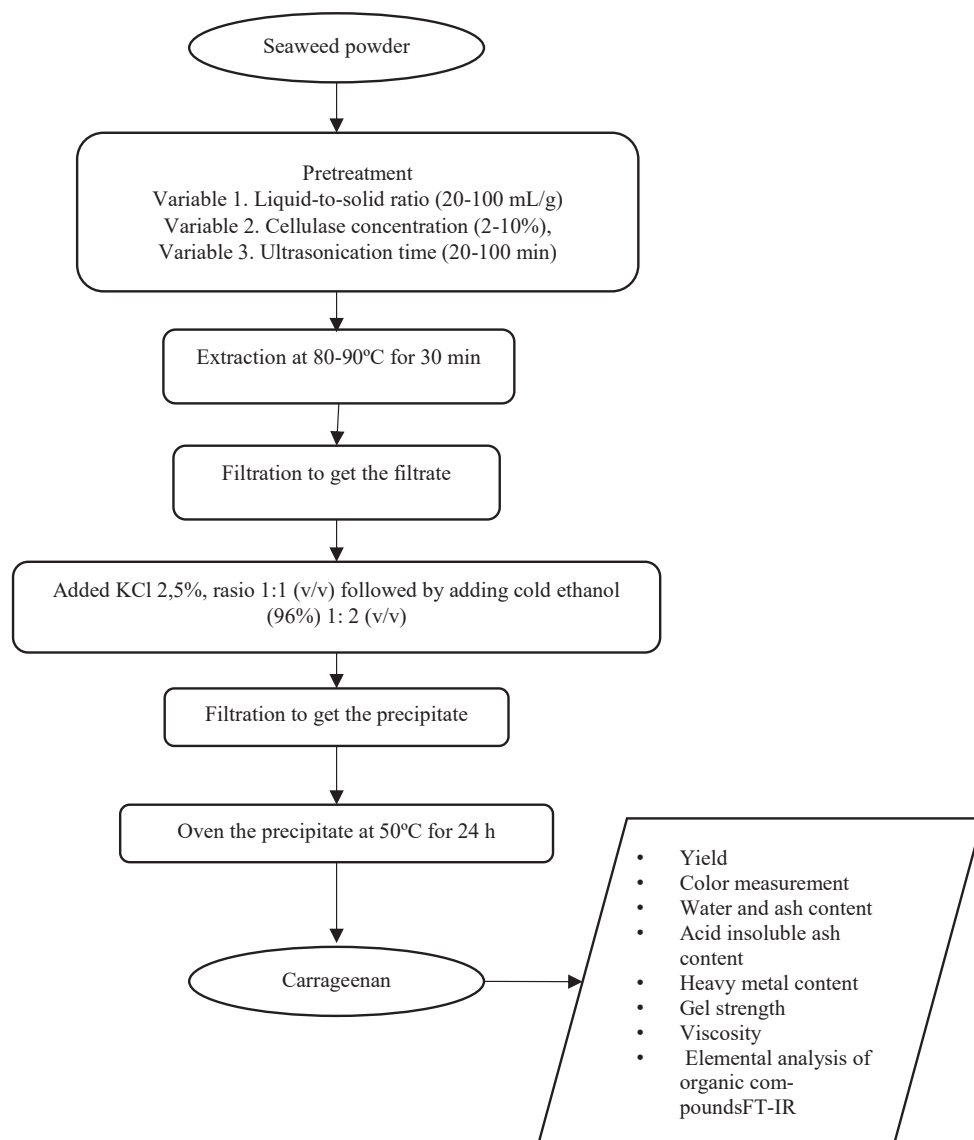


Figure 2 Flowchart of optimization of carrageenan extraction using UACE methods with different variables

Gambar 2 Diagram alir optimasi ekstraksi karagenan menggunakan metode UACE dengan variabel yang berbeda

karagenan. Sebelum digunakan, kromameter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan plat keramik berwarna putih. Sampel karagenan diletakkan pada cawan petri hingga menutupi seluruh bagian dasar wadah, dan permukaan sampel harus rata. Kemudian cawan petri yang berisi sampel diletakkan di bawah *measuring head* dan dilakukan pengukuran warna dengan menekan tombol *measurement*. Hasil pengukuran akan muncul di layar berupa nilai L^* , a^* dan b^* , dan nilai tersebut

merupakan parameter warna suatu sampel. L^* menunjukkan derajat warna putih yang memiliki nilai berkisar 0 (hitam) hingga 100 (putih). Parameter a^* mengukur derajat warna merah (+a) atau hijau (-a), dan parameter b^* mengukur derajat warna kuning (+b) atau biru (-b) (Martini *et al.*, 2020).

Analisis Kadar Air dan Kadar Abu

Analisis kadar air dilakukan dengan menggunakan *moisture balance* (OHAUS



MB120, Amerika), sedangkan analisis kadar abu dilakukan secara gravimetri dengan mengabukan karagenan pada suhu 600°C selama 3 jam. Kadar air menyatakan jumlah air yang terkandung di dalam karagenan, sedangkan kadar abu menyatakan banyaknya bahan anorganik yang terdapat pada karagenan (Nurhidajah *et al.*, 2021; Diharmi *et al.*, 2020).

Analisis Kadar Abu Tidak Larut Asam

Analisis kadar abu tidak larut asam mengacu pada SNI 2354.1:2010 (BSN, 2010). Karagenan yang telah diabukan dididihkan dalam 25 mL HCl 10% selama 5 menit, disaring menggunakan kertas saring tak berabu (Whatman 42), dan abu yang tersisa dicuci dengan akuades panas hingga netral. Kertas saring dan abu dikeringkan di dalam oven dan diabukan kembali pada suhu 500°C selama 2 jam. Abu yang diperoleh dinyatakan sebagai abu tidak larut asam dan dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Abu tak larut asam} = \frac{\text{Berat abu tak larut asam (g)}}{\text{Berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Analisis Kadar Logam Berat

Analisis logam berat dilakukan menggunakan metode spektrofotometri serapan atom (SSA) mengacu pada Uddin *et al.* (2016) dengan modifikasi. Sampel karagenan 1 g dimasukkan ke dalam vessel, kemudian ditambahkan 1 mL HClO₄ 60% (Merck, Jerman) dan 5 mL HNO₃ 65% (Merck, Jerman), dan didiamkan selama semalam. Sampel selanjutnya didestruksi dengan cara pemanasan secara bertahap hingga terbentuk endapan berwarna putih atau larutan jernih. Sampel yang telah terdestruksi sempurna diencerkan dengan air bebas ion hingga mencapai volume tertentu, dihomogenkan dan siap diuji. Deret standar masing-masing logam berat (As, Cd, Pb dan Hg) digunakan sebagai pembanding.

Analisis Kadar Sulfat

Analisis kadar sulfat karagenan mengacu pada metode FMC Corp. (1977)

dengan sedikit modifikasi. Sampel karagenan 1 g ditimbang dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian ditambahkan 50 mL HCl 0,2N (HCl 37%, SAP Chemical, Indonesia) dan direfluks selama 6 jam hingga larutan menjadi jernih. Larutan jernih yang diperoleh dipindahkan ke dalam gelas piala dan dididihkan kembali. Setelah larutan mendidih, pindahkan gelas piala ke atas penangas air, kemudian ditambahkan 10 mL larutan BaCl₂ 0,25M (Merck, Jerman) setetes demi setetes selama 2 jam. Endapan yang terbentuk disaring menggunakan kertas saring bebas abu (Whatman 42) dan dicuci dengan akuades mendidih hingga bebas klorida. Kertas saring dan endapan selanjutnya dikeringkan dalam oven pengering, diabukan pada suhu 550°C hingga diperoleh abu yang berwarna putih yang merupakan BaSO₄. Kadar sulfat dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\text{Kadar sulfat} = \frac{\text{berat abu (g)} \times 0.4116}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Uji Kekuatan Gel

Kekuatan gel dianalisis menggunakan *Texture Analyzer* (TA.XT plusC, UK). Gel karagenan disiapkan dengan menyiapkan larutan karagenan 1,5% yang dipanaskan pada suhu 80-85°C hingga karagenan larut sempurna. Larutan karagenan yang diperoleh selanjutnya didinginkan hingga terbentuk gel yang kokoh, kemudian disimpan pada suhu 4°C selama semalam. Sebelum dilakukan pengujian, gel karagenan dikeluarkan dari lemari pendingin selama beberapa saat dan pengujian dilakukan pada suhu 10°C (Diharmi *et al.*, 2020).

Uji Viskositas

Viskositas karagenan ditentukan mengacu pada metode (Toumi *et al.*, 2023) dengan menggunakan *rheometer* (Anton Paar MCR 302, Austria). Larutan karagenan 1,5% (b/v) dipanaskan pada suhu 80-85°C disertai pengadukan konstan. Viskositas diukur pada suhu sampel 75°C menggunakan plat standar (diameter 40 mm, gap 1 mm). Kurva aliran ditentukan berdasarkan variasi viskositas

sebagai fungsi laju geser pada kisaran 0,001–1000 (1/s).

Analisis Kadar Unsur C, H, N dan S

Analisis terhadap unsur C, H, N, dan S pada karagenan berdasarkan Shrgawi *et al.* (2021) dilakukan menggunakan *organic elemental analyzer* (Thermo Fisher Scientific, Flash SMART, Jerman). Uji ini dilakukan untuk menentukan komposisi unsur karbon (C), hidrogen (H), nitrogen (N), dan sulfur (S) dalam karagenan guna mengevaluasi kemurnian serta kandungan protein yang masih tersisa.

Analisis Struktur Karagenan

Analisis struktur karagenan menggunakan inframerah transformasi fourier (FTIR) spektroskopi (Vertex 80, Jerman). Pengukuran spektrum FT-IR karagenan dilakukan dengan menggunakan teknik *Attenuated Total Reflectance* (ATR). Spektrum FT-IR direkam pada panjang gelombang 400-4000 cm^{-1} dengan resolusi spektral 0,5 cm^{-1} (Manuhara *et al.*, 2016).

Analisis Data

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan ulangan ekstraksi karagenan dilakukan sebanyak dua kali. Proses optimasi ekstraksi dengan metode UACE dilakukan secara bertahap, yaitu penentuan

variabel rasio pelarut dan rumput laut 20, 40, 60, 80, 100 mL/g), variabel konsentrasi enzim (2, 4, 6, 8, -10 mL/g), dan kemudian variabel waktu ultrasonikasi (20, 40, 60, 80, 100 menit). Sedangkan analisis kualitas dan karakterisasi karagenan dilakukan dengan menguji karagenan pada variabel terbaik yang menghasilkan rendemen tertinggi. Data rendemen yang diperoleh kemudian diolah menggunakan uji ANOVA dengan perangkat lunak SPSS 29. Apabila hasil analisis sidik ragam menunjukkan ada beda nyata, maka akan dilanjutkan dengan *Tukey's Test* dengan taraf kepercayaan 95% ($p < 0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN Pengaruh Praperlakuan

Rendemen karagenan yang diperoleh dari rumput laut *K. alvarezii* dengan berbagai perlakuan pendahuluan disajikan pada *Figure 3*. Hasil pengamatan menunjukkan perlakuan pendahuluan kombinasi enzimatis berbantu ultrasonikasi menghasilkan rendemen karagenan tertinggi, yaitu sebesar 44,50%. Menurut Tarman *et al.* (2020), penggunaan enzim selulase bertujuan untuk meningkatkan efisiensi proses ekstraksi karagenan dari rumput laut merah karena enzim tersebut secara efektif merusak matriks serat rumput laut, sehingga memudahkan pelepasan karagenan. Karagenan terletak di dalam dinding sel matriks rumput laut dan merupakan komponen yang bersifat larut

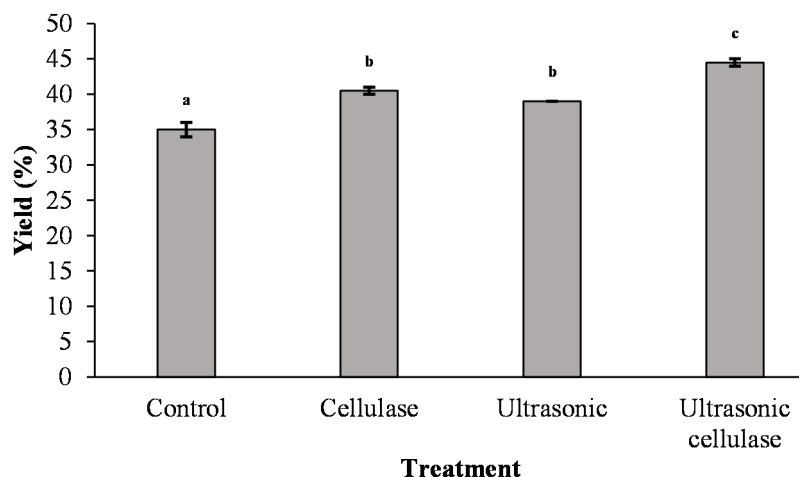


Figure 3 Effect of various pretreatments on carrageenan yield ($p < 0.05$)
Gambar 3 Pengaruh variasi praperlakuan pada rendemen karagenan ($p < 0,05$)



dalam air, sehingga untuk mendapatkannya dinding sel rumput laut harus dipecah agar karagenan dapat terlepas. Dinding sel matriks rumput laut umumnya tersusun dari selulosa, sehingga sangat rentan terhadap hidrolisis enzimatis. Selain itu ketiadaan lignin sebagai komponen penyusun dinding sel matriks rumput laut memungkinkan proses hidrolisis berlangsung lebih cepat (Tarman *et al.* 2020). Hal ini didukung oleh hasil penelitian Varadarajan *et al.* (2009) yang menunjukkan bahwa penggunaan enzim selulase pada ekstraksi karagenan menghasilkan rendemen sebesar 45% dibandingkan ekstraksi dengan cara konvensional yang hanya menghasilkan rendemen karagenan sebesar 37,5%. Penelitian mengenai ekstraksi karagenan dengan berbantu enzim selulase juga telah dilakukan oleh Sulistiawati *et al.* (2020). Ekstraksi karagenan dari *K. alvarezii* menggunakan enzim selulase sebanyak 1% dapat menaikkan rendemen hingga 6,44%.

Aplikasi metode ekstraksi berbantu ultrasonikasi menunjukkan adanya peningkatan jumlah rendemen komponen target yang diperoleh dibandingkan metode ekstraksi lainnya, misalnya metode ekstraksi konvensional, metode fluida superkritik (*supercritical fluid extraction*) dan metode ekstraksi berbantu gelombang mikro (*microwave-assisted extraction*) (Wang *et al.*, 2021; Vo *et al.*, 2023; Mendes *et al.*, 2024). Perlakuan ultrasonikasi menyebabkan terjadinya kerusakan dinding sel yang

menyebabkan pengecilan ukuran partikel, memicu lebih banyak sonoporasi serta fragmentasi dinding dan jaringan sel rumput laut, sehingga akan meningkatkan perpindahan massa isi sel dan penetrasi pelarut ke dalam jaringan rumput laut (Vo *et al.*, 2021; Mendes *et al.*, 2024). Penggabungan dua metode, yaitu kombinasi enzimatis dan ultrasonik memberikan hasil maksimal pada ekstraksi karagenan, dibandingkan hanya menggunakan salah satu metode saja.

Optimasi Ekstraksi Karagenan Pengaruh rasio rumput laut : pelarut terhadap jumlah rendemen

Rendemen karagenan yang diperoleh dari proses ekstraksi pada berbagai rasio rumput laut : pelarut disajikan pada *Figure 4*. Rendemen karagenan mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan rasio pelarut : rumput laut yang digunakan. Rendemen tertinggi dihasilkan dari perlakuan dengan rasio pelarut : rumput laut 100 mL/g sebesar $54,5 \pm 0,5\%$, sedangkan rendemen terendah dihasilkan dari perlakuan dengan rasio pelarut : rumput 20 mL/g sebesar $44,5 \pm 0,5\%$. Hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan rasio pelarut : rumput laut dari 20 mL/g ke 40 mL/g, 40 mL/g ke 60 mL/g, 60 mL/g ke 80 mL/g, dan 80 mL/g ke 100 mL/g tidak berpengaruh nyata terhadap rendemen yang dihasilkan. Namun, grafik pada *Figure 4* menunjukkan bahwa rendemen yang diperoleh cenderung bertambah dengan

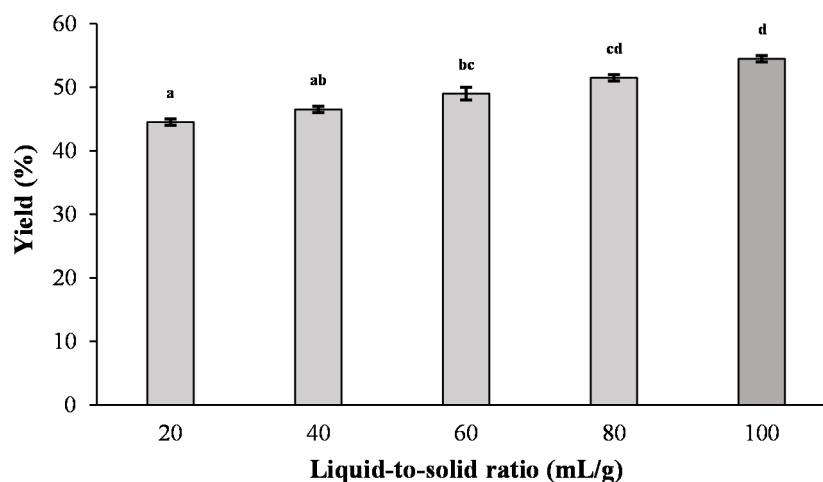


Figure 4 Yield of carrageenan extracted using various liquid-to-solid ratio ($p < 0.05$)

Gambar 4 Rendemen karagenan diekstrak pada berbagai rasio pelarut dan rumput laut ($p < 0,05$)

bertambahnya rasio pelarut : rumput laut.

Rasio pelarut dan rumput laut yang lebih tinggi akan berpotensi menghasilkan rendemen karagenan yang lebih banyak. Hal tersebut sesuai dengan prinsip perpindahan massa bahwa makin tinggi rasio pelarut : rumput laut, maka makin tinggi pula luas permukaan kontak antara padatan dengan pelarut, sehingga akan meningkatkan laju difusi zat terlarut ke dalam pelarut. Hal ini menyebabkan peningkatan efisiensi proses transfer massa yang akan menyebabkan lebih banyak zat terlarut yang dapat diekstrak, sehingga akan dihasilkan rendemen karagenan yang lebih banyak (Mohamad *et al.*, 2013).

Pengaruh konsentrasi enzim selulase terhadap jumlah rendemen

Pengaruh konsentrasi selulase terhadap persentase rendemen karagenan ditunjukkan pada *Figure 5*. Secara umum terdapat peningkatan jumlah karagenan yang dihasilkan seiring dengan peningkatan jumlah enzim selulase yang ditambahkan. Penambahan enzim selulase 2% dihasilkan rendemen karagenan sebesar $47,0 \pm 0,0\%$, sedangkan pada penambahan enzim selulase 10% dihasilkan rendemen karagenan sebesar $57,0 \pm 1,0\%$. Hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa rendemen karagenan mengalami kenaikan secara signifikan setelah 6% konsentrasi enzim ditambahkan. Penambahan konsentrasi enzim lebih dari 6%, yaitu 8%

dan 10%, tidak memberikan perbedaan secara signifikan. Meskipun demikian, *Figure 5* menunjukkan kecenderungan kenaikan rendemen dengan makin tinggi konsentrasi enzim selulase yang ditambahkan.

Peningkatan konsentrasi enzim selulase akan meningkatkan intensitas hidrolisis selulosa yang merupakan komponen penyusun dinding sel rumput laut, sehingga proses perusakan dinding sel akan berlangsung secara lebih intensif. Hal ini akan menyebabkan lebih banyak karagenan terdifusi dalam pelarut. Munoz *et al.* (2004) dan Wang *et al.* (2023) dalam penelitiannya mengenai ekstraksi polisakarida dari *Acanthopanax senticosus* secara enzimatis menggunakan selulase menyatakan bahwa peningkatan konsentrasi enzim selulase akan meningkatkan rendemen polisakarida yang diperoleh.

Pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap rendemen karagenan

Figure 6 menunjukkan pengaruh waktu ultrasonikasi terhadap rendemen karagenan yang diperoleh. Hasil uji sidik ragam menunjukkan bahwa peningkatan waktu ultrasonikasi berpengaruh terhadap rendemen, terutama dari menit ke-20 ke menit ke-40. Namun, rendemen yang dihasilkan pada menit selanjutnya, yaitu menit ke-60, 80 dan 100, tidak memberikan perbedaan yang signifikan. Walaupun demikian, secara umum persentase rendemen karagenan meningkat

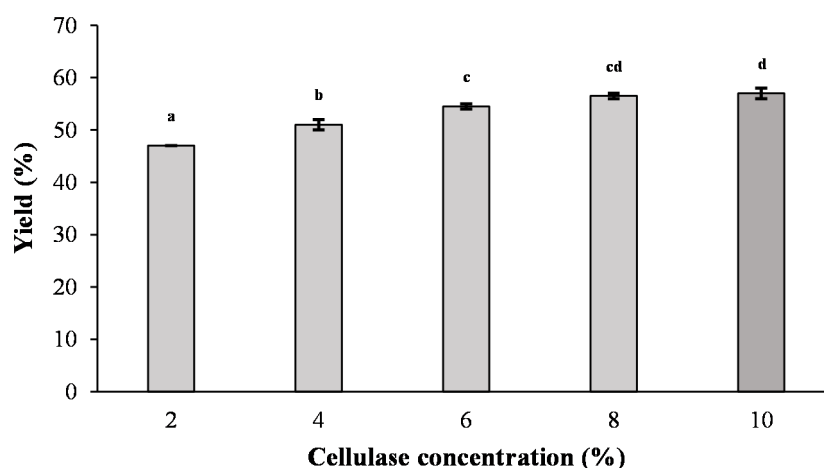


Figure 5 Yield of carrageenan extracted using various cellulase concentrations ($p < 0.05$)

Gambar 5 Rendemen karagenan diekstrak pada berbagai konsentrasi selulase ($p < 0,05$)

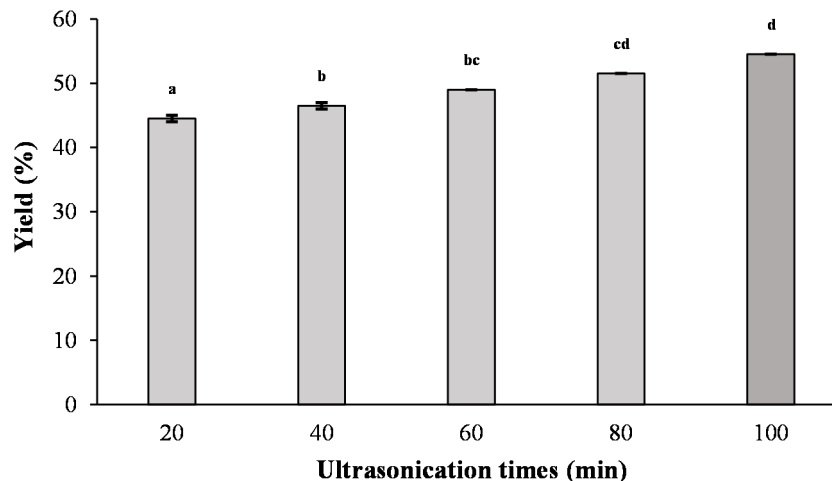


Figure 6 Yield of carrageenan extracted using various ultrasonication times ($p < 0.05$)

Gambar 6 Rendemen karagenan diekstrak pada berbagai waktu ($p < 0,05$)

seiring dengan waktu ultrasonikasi yang lebih lama. Peningkatan waktu ultrasonikasi tersebut mampu meningkatkan persentase rendemen karagenan sebesar 2–5,5%. Perlakuan ultrasonikasi selama 40 menit ($58,5 \pm 0,5\%$) mampu meningkatkan persentase rendemen karagenan sebesar 2% dari rendemen karagenan dengan waktu ultrasonikasi selama 20 menit ($56,5 \pm 0,5\%$), sedangkan perlakuan ultrasonikasi selama 100 menit ($62,0 \pm 0,0\%$) mampu meningkatkan rendemen karagenan sebesar 5,5% dari rendemen karagenan dengan waktu ultrasonikasi selama 20 menit.

Persentase rendemen karagenan yang diperoleh pada penelitian ini cukup tinggi jika dibandingkan dengan persentase rendemen karagenan dari penelitian-penelitian sebelumnya ditunjukkan pada *Table 1* yang menunjukkan bahwa kandungan dan kualitas karagenan dari *K. alvarezii* sangat bervariasi. Keberagaman ini dapat dipengaruhi oleh faktor biotik yaitu *strain* atau kultivar dari *K. alvarezii* maupun faktor abiotik yaitu suhu, salinitas, intensitas sinar matahari, pH, kejernihan air, sehingga bahan baku memiliki heterogenitas yang tinggi. Selain itu keberagaman rendemen karagenan juga sangat dipengaruhi oleh metode ekstraksi yang digunakan maupun variabel terikat yang digunakan yaitu suhu dan waktu ekstraksi, jenis pelarut yang digunakan, jenis alkali dan konsentrasi larutan alkali yang digunakan, suhu dan lama perlakuan alkali. Secara umum

perlakuan pendahuluan secara enzimatik menggunakan enzim selulase berbantu ultrasonikasi pada proses ekstraksi karagenan dari *K. alvarezii* ini mampu menghasilkan rendemen karagenan cukup tinggi.

Karakterisasi Karagenan Warna karagenan

Karagenan yang diperoleh dari proses optimasi selanjutnya dikarakterisasi untuk diuji kualitasnya. Ketampakan karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini disajikan pada *Figure 7* dan hasil karakterisasi warna karagenan disajikan pada *Table 2*.

Karagenan merupakan bahan tambahan pangan yang banyak dijumpai pada produk minuman, olahan susu dan olahan daging. Penambahan karagenan akan memengaruhi penampakan produk makanan secara keseluruhan, sehingga warna menjadi salah satu parameter penentu mutu karagenan. Serbuk karagenan berwarna putih hingga krem, sehingga nilai L^* menjadi sangat penting mengingat efek yang dapat ditimbulkan oleh warna putih dari karagenan terhadap hasil akhir warna produk. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa karagenan yang dihasilkan pada riset ini berwarna coklat tua dengan nilai L^* , a^* dan b^* disajikan pada *Table 2*. Karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki nilai L^* cukup rendah, sehingga produk cenderung berwarna gelap. Hal ini disebabkan karena pada penelitian

Table 1 Yield extraction of *K. alvarezii* carrageenan from different localities using different methodsTabel 1 Rendemen ekstraksi karagenan dari rumput laut *K. alvarezii* dari berbagai wilayah menggunakan berbagai metode ekstraksi

Extraction method	Yield (%)	Location	References
UACE	61	Balikpapan, East Kalimantan, Indonesia	The results of the research
NE	40-50	Cam Ran Bay, Vietnam	Bui <i>et al.</i> (2019)
SFE	71	Wagina, Solomon Island	Rhein-Knudsen <i>et al.</i> (2015)
Alkali (NaOH)	48	Palk Bay, India	Mishra <i>et al.</i> (2006)
Alkali (KOH)	52	Palk Bay, India	Mishra <i>et al.</i> (2006)
Alkali (4% KOH)	53.2	Philippines	Ohno <i>et al.</i> (1996)
Alkali (6% KOH)	54.6	Philippines	Ohno <i>et al.</i> (1996)
Alkali (8% KOH)	53.7	Philippines	Ohno <i>et al.</i> (1996)
UAE	50-55	BIS Agroculture (Madagascar)	Youssof <i>et al.</i> (2017)
NE	45.47	Pangasinan, Philippines	Mendes <i>et al.</i> (2024)
SFE	53.40	Pangasinan, Philippines	Mendes <i>et al.</i> (2024)
CE (NaOH)	35.67	Pangasinan, Philippines	Mendes <i>et al.</i> (2024)
CE (KOH)	77.33	Pangasinan, Philippines	Mendes <i>et al.</i> (2024)
UAE (NaOH)	33.73	Pangasinan, Philippines	Mendes <i>et al.</i> (2024)
UAE (KOH45)	63.20	Pangasinan, Philippines	Mendes <i>et al.</i> (2024)
UAE (KOH)	76.70	Pangasinan, Philippines	Mendes <i>et al.</i> (2024)
MAE (water, 60C)	17.16	Santa Catarina, Brazil	Rudke <i>et al.</i> (2022)
MAE (water, 80C)	23.42	Santa Catarina, Brazil	Rudke <i>et al.</i> (2022)
MAE (water, 100C)	23.02	Santa Catarina, Brazil	Rudke <i>et al.</i> (2022)
CE (80C)	50.25	Santa Catarina, Brazil	Rudke <i>et al.</i> (2022)
PWCE	34.12	Santa Catarina, Brazil	Rudke <i>et al.</i> (2022)

NE = Native Extraction, SFE = Supercritical Fluid Extraction, CE = Conventional Extraction, UAE = Ultrasound-Assisted Extraction, MAE = Microwave-Assisted Extraction, PWCE = Pressurized-water carrageenan extraction, UACE = Ultrasound-Assisted Cellulase Extraction

Table 2 L*, a*, and b* values of carrageenan

Tabel 2 Nilai L*, a*, dan b* karagenan

Type of carageenan	L*	a*	b*
Commercial carrageenan	72.2±0.1	2.7±0.0	11.2±0.1
Carrageenan from this study	36.9±1.1	5.9±1.4	19.3±0.3
Carrageenan (Sigma-Aldrich C1013)	74.1±0.2	4.1±0.0	14.9±0.1

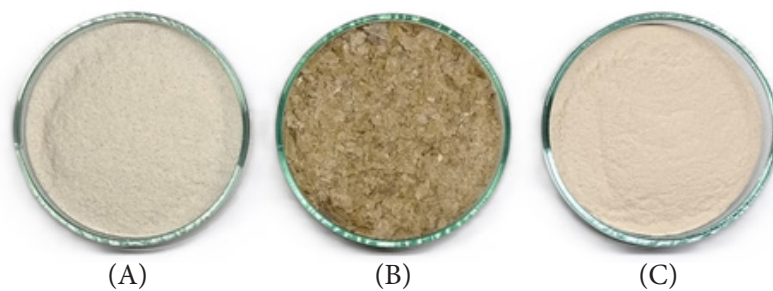


Figure 7 Carrageenan powder; (A) commercial (bulk), (B) from this study, (C) commercial (Sigma-Aldrich C1013)

Gambar 7 Serbuk karagenan; (A) komersial (grosir), (B) hasil penelitian, (C) komersial (Sigma-Aldrich C1013)

ini tidak dilakukan proses penghilangan pigmen yang terdapat pada rumput laut *K. alvarezii*, sehingga keberadaan pigmen fikokserin, klorofil, karoten dan xantofil memengaruhi kualitas warna dari produk akhir. Hal ini didukung oleh hasil penelitian Uju *et al.* (2019) yang menunjukkan bahwa proses penghilangan pigmen (*bleaching*) menggunakan asam perasetat dapat meningkatkan kecerahan warna karagenan yang dihasilkan.

Kadar air dan abu

Hasil karakterisasi dari karagenan selanjutnya dapat dilihat pada *Table 3*. Karagenan yang diperoleh memiliki kadar air sebesar $5,47 \pm 1,44\%$ dan telah sesuai dengan SNI 8391-1:2017. Hasil analisis kadar abu menunjukkan bahwa karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini memiliki kadar abu mencapai $50,65 \pm 0,91\%$, di atas batas maksimum yang diperbolehkan dalam SNI 8391-1:2017 tentang karagenan murni, yaitu 15-40%. Abu merupakan bahan anorganik sisa hasil pembakaran suatu bahan. Kadar abu suatu bahan umumnya berkaitan dengan kandungan mineral bahan tersebut, makin rendah kandungan mineral bahan tersebut, maka makin rendah pula kadar abunya.

Kadar abu sangat dipengaruhi oleh teknik ekstraksi karagenan dan tingkat kebersihan dalam proses pencucian rumput laut. Pencucian rumput laut merupakan tahap penting untuk meminimalisir kandungan garam yang berlebihan (Martín-del-Campo *et al.*, 2021). Pencucian yang kurang optimal selama proses koagulasi karagenan

dengan penambahan larutan KCl juga dapat memberikan dampak signifikan, karena ion K^+ berperan dalam meningkatkan kadar abu. Manuhara *et al.* (2016) dalam penelitian ekstraksi kappa karagenan dari *K. alvarezii* membuktikan bahwa kenaikan konsentrasi larutan KCl dalam proses koagulasi karagenan dapat meningkatkan kadar abu.

Kadar abu tak larut asam dan logam berat

Tingginya kadar abu karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini diikuti oleh tingginya kadar abu tidak larut asam dari karagenan yang dihasilkan, yaitu $3,46 \pm 0,63\%$ (*Table 3*). Tingginya kadar abu dan kadar abu tidak larut asam dari karagenan hasil penelitian ini dapat memberikan gambaran mengenai kualitas rumput laut yang digunakan pada penelitian ini. Kadar abu tidak larut asam umumnya digunakan untuk mengetahui keberadaan kontaminan dalam suatu bahan, seperti pasir, tanah, dan bahan asing lainnya. Kadar abu tidak larut asam pada karagenan juga dipengaruhi oleh kandungan mineral dalam bahan baku dan memiliki hubungan yang kuat dengan keberadaan logam berat dalam bahan tersebut (Subaryono *et al.*, 2021). Meskipun ada keterkaitan antara abu tak larut asam dengan keberadaan logam berat, kandungan logam berat yaitu As, Cd, Hg, dan Pb karagenan yang didapatkan masih jauh di bawah SNI (*Table 3*).

Kadar sulfat dan kekuatan gel

Kekuatan gel karagenan, yang merupakan salah satu atribut mutu kualitas

Table 3 Characteristics of carrageenan based on research result
Tabel 3 Karakteristik karagenan hasil penelitian

Parameters	Carrageenan research result	SNI 8391-1:2017
Water content (%)	5.47±1.44	≤12
Ash content (%)	50.65±0.91	15-40
Acid insoluble ash content (%)	3.46±0.63	≤1
Sulfate content (%)	23.05±0.27	15-40
pH	6.57±0.15	-
Gel Strenght (water gel, 1,5% at 10°C) (g/cm ²)	37.74±3.35	≤700
Particle size (60 mesh) (%)	-	≤80
Viscosity (1,5% at 75°C) (cPs)	5.70±0.15	≤5
Arsen (As) (mg/kg)	<0.0003	≤3
Cadmium (Cd) (mg/kg)	0.001	≤2
Mercury (Hg) (mg/kg)	0.11	≤1
Lead (Pb) (mg/kg)	0.60	≤5

karagenan, dipengaruhi oleh kadar sulfat dan kadar 3,6-anhydro-D-galactose (3-AG). Kandungan kadar sulfat yang rendah dan kandungan kadar 3-AG yang tinggi akan menghasilkan karagenan dengan kekuatan gel yang tinggi (Azevedo *et al.*, 2013; Jiang *et al.*, 2022). Kondisi tersebut dapat dicapai melalui perlakuan alkali yang akan mengubah D-galaktosa-6-sulfat menjadi 3,6-anhidrogalaktoza, dan sebagian gugus sulfat pada posisi C6 mengalami substitusi nukleofilik oleh gugus alkoksi (-RO-) membentuk cincin 3,6-cincin terdehidrasi (Viana *et al.*, 2004). Azevedo *et al.* (2013) menyatakan bahwa adanya perlakuan alkali pada ekstraksi karagenan akan menghasilkan karagenan dengan kadar sulfat rendah namun memiliki kadar 3,6-AG tinggi. Hal ini akan mendorong pembentukan lebih banyak heliks ganda dan meningkatkan stabilitas struktur molekul, sehingga meningkatkan kekuatan gel karagenan secara signifikan.

Hasil analisis pada *Table 3* menunjukkan bahwa kadar sulfat karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini telah sesuai dengan kadar sulfat dalam SNI 8391-1:2017 tentang karagenan murni, yaitu 23,05±0,27% (BSN, 2017). Namun kekuatan gel karagenan yang dihasilkan hanya sebesar 37,74 g/cm²

(*Table 3*). Hal tersebut menunjukkan bahwa gel yang dihasilkan oleh karagenan tersebut sangat rapuh. Tidak terdapat perlakuan alkali yang dilakukan sebelum proses ekstraksi, sehingga tidak terjadi konversi D-galaktosa-6-sulfat menjadi 3,6-anhidrogalaktoza yang memengaruhi pembentukan ikatan heliks dan kestabilan struktur molekul, sehingga dihasilkan gel yang tidak kokoh (Jiang *et al.*, 2022). Noor *et al.* (2021) melakukan ekstraksi karagenan dari *Kappaphycus alvarezii* yang berasal dari Tanjung Sumenep. Karagenan yang diekstraksi dengan KOH 0,5 N dan NaOH 0,5 N menghasilkan kekuatan gel yang cukup tinggi, yaitu 421,483±156,74 g/cm² dan 431,68±262,02. Sedangkan, ekstraksi dengan menggunakan pelarut air tidak dapat membentuk gel.

Viskositas

Viskositas yang dihasilkan sebesar 5,7 cPs (*Table 3*). Walaupun telah memenuhi batas minimum yang diperbolehkan dalam SNI 8391-1:2017 tentang karagenan murni (BSN, 2017), namun nilai viskositas karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini cukup rendah jika dibandingkan dengan nilai viskositas karagenan dari penelitian-penelitian sebelumnya seperti ditunjukkan pada *Table 4*.



Table 4 Comparison of carrageenan viscosity from *K. alvarezii* extracted using various methods
Tabel 4 Perbandingan viskositas karagenan dari rumput laut *K. alvarezii* yang diekstrak dengan beberapa metode

Extraction method	Viscosity (cPs)	References
UACE	5.70	The results of the research
NE	16.80	Mendes <i>et al.</i> (2024)
SFE	7.80	Mendes <i>et al.</i> (2024)
CE (NaOH)	15.90	Mendes <i>et al.</i> (2024)
CE (KOH)	50.87	Mendes <i>et al.</i> (2024)
UAE (NaOH)	8.10	Mendes <i>et al.</i> (2024)
UAE (KOH45)	183.60	Mendes <i>et al.</i> (2024)
UAE (KOH)	658.70	Mendes <i>et al.</i> (2024)
BM	11.81	Firdayanti <i>et al.</i> (2023)
Alkali*	21.49	Siregar <i>et al.</i> (2016)

NE = Native Extraction, SFE = Supercritical Fluid Extraction, CE = Conventional Extraction, UAE = Ultrasound-Assisted Extraction, BM = Bead Mill, UACE = Ultrasound-Assisted Cellulase Extraction. Alkali* according to Hayashi *et al.* (2007).

Selain memengaruhi kekuatan gel, kadar sulfat memengaruhi viskositas karagenan. Menurut Campo *et al.* (2009), nilai kadar sulfat karagenan berbanding lurus dengan nilai viskositas, makin rendah kadar sulfat, maka makin rendah viskositas karagenan. Hal ini karena gugus sulfat bersifat hidrofilik, sehingga mudah untuk berikatan dengan molekul air. Akibatnya karagenan yang memiliki kadar sulfat tinggi akan lebih mudah larut dalam air.

Kadar unsur C, H, N dan S

Kandungan C, H, N dan S dari karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini disajikan ada Table 5. Karagenan mengandung

unsur C dan S yang tinggi karena karagenan merupakan polisakarida yang mengandung gugus sulfat. Jika dibandingkan dengan *refined carrageenan* pada penelitian Adam *et al.* (2021), kadar C, H, dan S dari tepung karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini masih rendah, menunjukkan bahwa tingkat kemurniannya belum setara dengan karagenan komersial yang telah dimurnikan.

Selain itu, adanya nitrogen (N) sebesar 0,96% dalam karagenan hasil penelitian ini mengindikasikan masih adanya protein, yang menandakan bahwa karagenan yang dihasilkan belum sepenuhnya murni. *Refined carrageenan* sebagai perbandingan mengandung nitrogen 0%, yang artinya

Table 5 Elemental content in carrageenan
Tabel 5 Kadar unsur dalam karagenan

Type of element	Carrageenan research results (%)	Commercially refined carrageenan (%)*
Carbon (C)	24.01	31.52
Hydrogen (H)	4.40	5.97
Nitrogen (N)	0.96	0
Sulfur (S)	5.89	6.28

(Adam *et al.*, 2021)

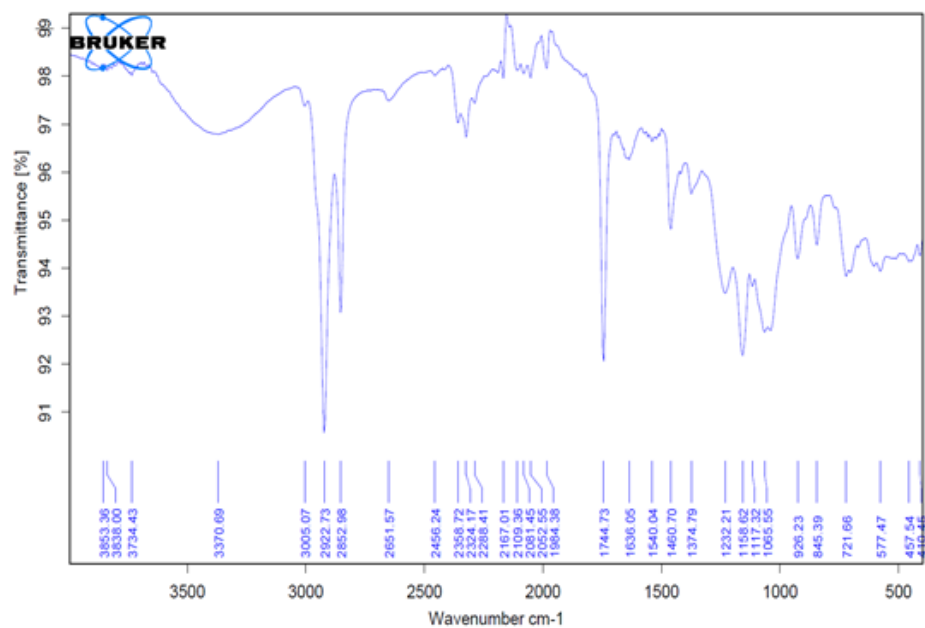


Figure 8 FTIR Spectrum of carrageenan sample

Gambar 8 Spektrum FTIR sampel karagenan

memiliki kemurnian yang lebih tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun metode ekstraksi berbantu ultrasonikasi-enzimatis meningkatkan rendemen, metode ini masih perlu disempurnakan agar dapat menghasilkan karagenan dengan kualitas yang lebih baik dan kemurnian lebih tinggi.

Gugus fungsi karagenan

Figure 8 menunjukkan spektrum FTIR dari karagenan yang dihasilkan pada penelitian ini. Spektrum FT-IR menunjukkan puncak pada bilangan gelombang 3370,69 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi peregangan gugus hidroksi (O-H), sedangkan puncak pada bilangan gelombang 2922,73 cm^{-1} menunjukkan adanya vibrasi peregangan C-H alifatik (Dewi *et al.*, 2012). Pita serapan kuat pada 1232,21 cm^{-1} dan 1065,55 cm^{-1} menunjukkan keberadaan ikatan ester sulfat (S=O) dan ikatan β -1,4-glikosidik (Abdul Khalil *et al.*, 2018). Puncak pada 926,23 cm^{-1} dan 845,39 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan 3,6-anhidro-D-galaktosa dan D-galaktosa-4-sulfat, yang menjadi ciri khas karagenan jenis kappa. Tidak adanya serapan di sekitar 805 cm^{-1} , serta 1026, 867, 830, dan 820 cm^{-1} , menunjukkan bahwa sampel tidak mengandung iota (ι) maupun lambda (λ)

karagenan (Prado-Fernández *et al.*, 2003).

KESIMPULAN

Perlakuan pendahuluan enzimatis berbantu ultrasonikasi (UACE) pada ekstraksi karagenan dari *K. alvarezii* meningkatkan rendemen karagenan dibandingkan metode lain. Rendemen meningkat seiring dengan peningkatan rasio pelarut:rumput laut, konsentrasi enzim selulase, dan waktu ultrasonikasi. Namun, karagenan yang dihasilkan memiliki warna lebih gelap, kadar abu tinggi, kekuatan gel rendah, serta belum memenuhi SNI 8391-1:2017. Kandungan nitrogen yang terdeteksi menunjukkan ketidakmurnian karagenan yang dihasilkan akibat masih terdapat kandungan protein. Analisis FTIR mengonfirmasi bahwa karagenan yang diperoleh adalah merupakan jenis kappa-karagenan. Berdasarkan hasil tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aplikasi perlakuan pendahuluan enzimatis berbantu ultrasonikasi pada proses ekstraksi karagenan agar tidak hanya mampu menghasilkan karagenan dalam kuantitas yang lebih banyak, namun juga mampu menghasilkan karagenan dengan kualitas yang lebih baik.



UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kepada Kemendikbudristek yang telah membantu dalam pendanaan penelitian ini, yaitu melalui program pendanaan BIMA pada tahun 2024 (Nomor Kontrak 6474/IT.10.II/PPM.04/2024) dengan penerima hibah atas nama Amalia Nur Kumalaningrum, Ni'matus Sholihah, Crescentiana Dewi Poeloengasih. Selain itu, ucapan terimakasih juga kami sampaikan kepada Institut Teknologi Kalimantan dan Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan (PRTPP), Badan Riset dan Inovasi Nasional atas bantuan dan kerjasamanya untuk mensukseskan penyelesaian kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul Khalil, H. P. S., Tye, Y. Y., Kok, C. Y., & Saurabh, C. K. (2018). Preparation and characterization of modified and unmodified carrageenan based films. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 368, 012020. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/368/1/012020>
- Adam, F., Hamdan, M. A., Abu Bakar, S. H., Yusoff, M. M., & Jose, R. (2021). Molecular recognition of isovanillin crosslinked carrageenan biocomposite for drug delivery application. *Chemical Engineering Communications*, 208(5), 741–752. <https://doi.org/10.1080/00986445.2020.1731802>
- Alboofetileh, M., Rezaei, M., & Tabarsa, M. (2019). Enzyme-assisted extraction of Nizamuddinina zanardinii for the recovery of sulfated polysaccharides with anticancer and immune-enhancing activities. *Journal of Applied Phycology*, 31(2), 1391–1402. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1651-7>
- Azevedo, G., Hilliou, L., Bernardo, G., Sousa-Pinto, I., Adams, R. W., Nilsson, M., & Villanueva, R. D. (2013). Tailoring kappa/iota-hybrid carrageenan from *Mastocarpus stellatus* with desired gel quality through pre-extraction alkali treatment. *Food Hydrocolloids*, 31(1), 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.010>
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. (2010). SNI 2354.1:2010. Cara uji kimia- Bagian 1: Penentuan kadar abu dan abu tak larut dalam asam pada produk perikanan. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- [BSN] Badan Standardisasi Nasional. (2017). SNI 8391-1:2017. Karaginan murni (Refined Carrageenan) -Bagian1: Kappa Karaginan-Syarat mutu dan pengolahan. Jakarta: Badan Standarisasi Nasional.
- Bui, T.N.T.V. (2019). Structure, Rheological Properties and Connectivity of Gels Formed by Carrageenan Extracted from Different Red Algae Species. [Thesis]. Le Mans Université, Le Mans, France.
- Bui, V. T. N. T., Nguyen, B. T., Renou, F., & Nicolai, T. (2019). Structure and rheological properties of carrageenans extracted from different red algae species cultivated in Cam Ranh Bay, Vietnam. *Journal of Applied Phycology*, 31(3), 1947–1953. <https://doi.org/10.1007/s10811-018-1665-1>
- Campo, V. L., Kawano, D. F., Silva, D. & Carvalho, I. (2009). Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*, 77(2), 167 – 180. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.01.020>
- Carreira-Casais, A., Otero, P., Garcia-Perez, P., Garcia-Oliveira, P., Pereira, A. G., Carpena, M., Soria-Lopez, A., Simal-Gandara, J., & Prieto, M. A. (2021). Benefits and drawbacks of ultrasound-assisted extraction for the recovery of bioactive compounds from marine algae. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(17), 9153. <https://doi.org/10.3390/ijerph18179153>
- Casas, M. P., Conde, E., Domínguez, H., & Moure, A. (2019). Ecofriendly extraction of bioactive fractions from *Sargassum muticum*. *Process Biochemistry*, 79, 166–173. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2018.12.021>
- Chemat, F., Rombaut, N., Meullemiestre, A., Turk, M., Perino, S., Fabiano-Tixier, A.-S., & Abert-Vian, M. (2017). Review of green food processing techniques. Preservation, transformation, and extraction. *Innovative Food Science*

- & *Emerging Technologies*, 41, 357–377. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.04.016>
- Chen, F., Geng, W., Li, X., Chen, L., Xu, C., Huang, W., & Ming, Y. (2023). Optimization of the ultrasonic-assisted enzymatic extraction of polysaccharides from *Dendrobium officinale* Kimura et Migo and bioactivity study. *CyTA - Journal of Food*, 21(1), 692–700. <https://doi.org/10.1080/19476337.2023.2264901>
- Cui, J., Zhao, C., Feng, L., Han, Y., Du, H., Xiao, H., & Zheng, J. (2021). Pectins from fruits: Relationships between extraction methods, structural characteristics, and functional properties. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 39–54. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.077>
- Dewi, E. N., Darmanto, Y. S., & Ambariyanto. (2012). Characterization and quality of semi refined carrageenan (SCR) products from different coastal waters based on fourier transform infrared technique. *Journal of Coastal Development*, 16(1), 25–31.
- Dianursanti, D., Siregar, A., Maeda, Y., Yoshino, T., & Tanaka, T. (2020). The Effects of solvents and solid-to-solvent ratios on ultrasound-assisted extraction of carotenoids from *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Technology*, 11(5), 941. <https://doi.org/10.14716/ijtech.v11i5.4331>
- Diharmi, A., Rusnawati & Irasari, N. (2020). Characteristic of carrageenan *Eucheuma cottonii* collected from the coast of Tanjung Medang Village and Jaga Island Riau. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 404. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/404/1/012049>
- Distantina, S., Rochmadi, R., Wiratni, W., Fahrurrozi, M. (2012) The Mechanism of carrageenan extraction from *Eucheuma cottonii* using alkaline solvent. *agriTECH*, 32, 397–402.
- Duan, F., Yu, Y., Liu, Z., Tian, L., & Mou, H. (2016). An effective method for the preparation of carrageenan oligosaccharides directly from *Eucheuma cottonii* using cellulase and recombinant κ -carrageenase. *Algal Research*, 15, 93–99. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.02.006>
- Firdaus, M., Nurdiana, R., Prihanto, A. A., Lestari, E. P., Suyono, & Amam, F. (2021). Carrageenan characteristics of *Kappaphycus alvarezii* from various harvest ages. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 860, 012067, <https://doi.org/10.1088/1755-1315/860/1/012067>
- Firdayanti, L., Yanti, R., Rahayu, E. S., & Hidayat, C. (2023). Carrageenan extraction from red seaweed (*Kappaphycopsis cottonii*) using the bead mill method. *Algal Research*, 69, 102906. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102906>
- FMC Corp. (1977). *Carrageenan*, Marine Colloid Monograph Number One, Marine Colloids Division FMC Corporation, Springfield, New Jersey, USA
- Hanifah, I., Izzati, F., Rahmawati, S.I., Hermanianto, J., Giriwono, P.E., Hapsari, Y., Bustanussalam, Rahman, F., Septiana, E., & Simanjuntak, P. (2021). Optimasi selulase pada enzyme assisted extraction lemak dari *Caulerpa Lentillifera* menggunakan response surface methodology. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Kelautan Tropis*, 13(1), 19–37. <https://doi.org/10.29244/jitkt.v13i1.32654>
- Huang, G., Chen, F., Yang, W., & Huang, H. (2021). Preparation, deproteinization and comparison of bioactive polysaccharides. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 564–568. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.038>
- Imeson, A.P. Carrageenan and Furcellaran, 2nd ed.; Woodhead Publishing Limited: Sawston, UK, 2009.
- Iqbal, A., Schulz, P., & Rizvi, S. S. H. (2021). Valorization of bioactive compounds in fruit pomace from agro-fruit industries: Present Insights and future challenges. *Food Bioscience*, 44, 101384. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101384>
- Jiang, F., Liu, Y., Xiao, Q., Chen, F., Weng, H., Chen, J., Zhang, Y., & Xiao, A. (2022).



- Eco-friendly extraction, structure, and gel properties of ι-carrageenan extracted using $\text{Ca}(\text{OH})_2$. *Marine Drugs*, 20(7), 419. <https://doi.org/10.3390/md20070419>
- [KKP] Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia. (2023). Profil Pasar Rumput Laut. Direktorat Jenderal Penguatan Daya Saing Produk Kelautan dan Perikanan, Kementerian Kelautan dan Perikanan Republik Indonesia, Jakarta.
- Kumar, K., Srivastav, S., & Sharanagat, V. S. (2021). Ultrasound assisted extraction (UAE) of bioactive compounds from fruit and vegetable processing by-products: A review. *Ultrasonics Sonochemistry*, 70, 105325. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2020.105325>
- Romero, A. M., Picado Morales, J. J., Klose, L., & Liese, A. (2023). Enzyme-assisted extraction of ulvan from the green macroalgae *Ulva fenestrata*. *Molecules*, 28(19), 6781. <https://doi.org/10.3390/molecules28196781>
- Mandiri, R. T., Purnamayati, L., & Fahmi, A. S. (2022). Karakteristik cone es krim berbasis tepung cangkang udang dengan konsentrasi karagenan yang berbeda. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(2), 202-213. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v25i2.40364>
- Manuhara, G. J., Praseptianga, D. & Riyanto, R. A. (2016). Extraction and characterization of refined κ-carrageenan of red algae [*Kappaphycus alvarezii* (Doty ex P.C. Silva, 1996)] Originated from Karimun Jawa Islands. *Aquat Procedia*, 7, 106-111. <https://doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.014>
- Marić, M., Grassino, A. N., Zhu, Z., Barba, F. J., Brnčić, M., & Rimac Brnčić, S. (2018). An overview of the traditional and innovative approaches for pectin extraction from plant food wastes and by-products: Ultrasound-, microwaves-, and enzyme-assisted extraction. *Trends in Food Science & Technology*, 76, 28-37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.03.022>
- Martín-del-Campo, A., Fermín-Jiménez, J. A., Fernández-Escamilla, V. V., Escalante-García, Z. Y., Macías-Rodríguez, M. E., & Estrada-Girón, Y. (2021). Improved extraction of carrageenan from red seaweed (*Chondracantus canaliculatus*) using ultrasound-assisted methods and evaluation of the yield, physicochemical properties and functional groups. *Food Science and Biotechnology*, 30(7), 901-910. <https://doi.org/10.1007/s10068-021-00935-7>
- Martini, T. R., Pacheco, B. S., Pereira, C. M. P., Mansilla, A., Astorga-España, M. S., Dotto, G. L., Moraes, C. C. & Rosa, G. S. (2020). A novel biodegradable film based on κ-carrageenan activated with olive leaves extract. *Food Science & Nutrition*, 8(7), 3147-3156. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1554>
- Mendes, M., Cotas, J., Gutiérrez, I. B., Gonçalves, A. M. M., Critchley, A. T., Hinaloc, L. A. R., Roleda, M. Y., & Pereira, L. (2024). Advanced extraction techniques and physicochemical properties of carrageenan from a novel *Kappaphycus alvarezii* cultivar. *Marine Drugs*, 22(11), 491. <https://doi.org/10.3390/md22110491>
- Mishra, P.C., Jayasankar, R., Seema, C. (2006). Yield and quality of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* subjected to different physical and chemical treatments. *Seaweed Res. Utiln*, 28, 113-117.
- Mohamad, M., Ali, M. W., Ripin, A. & Ahmad, A. (2013). Effect of extraction process parameters on the yield of bioactive compounds from the roots of *Eurycoma Longifolia*. *Jurnal Teknologi*, 60(1), 51 - 57. <https://doi.org/10.11113/jt.v60.1441>
- Munoz, O., Sepulveda, M., & Schwartz, M. (2004). Effects of enzymatic treatment on anthocyanic pigments from grapes skin from chilean wine. *Food Chemistry*, 87(4), 487-490. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.12.024>
- Nadar, S. S., & Rathod, V. K. (2017). Ultrasound assisted intensification of enzyme activity and its properties: a mini-review. *World Journal of Microbiology and*

- Biotechnology*, 33(9), 170. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2322-6>
- Noor, H. M., Alamsjah, M. A. & Andriyono, S. (2021). Characterization of semi-refined kappa-carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* with different solvents in Tanjung Sumenep. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 679, 012043. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/679/1/012043>
- Nurdiani, R., Firdaus, M., Astuti, R. T., Yasmin, P., Fauzi, A., Ningsih, O. T., Puspitasari, D. A., & Delima, M. P. (2024). Optimasi penambahan karagenan dan minyak atsiri bawang putih pada *edible coating* dengan *response surface methodology*. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(9), 765-781. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i9.51539>
- Nurhidajah, Pranata, B., & Yonata, D. (2021). Pemodelan persamaan Arrhenius untuk memprediksi umur simpan penyedap rasa cangkang rajungan. *Agrointek*, 15(2), 566-573.
- Ohno, M., Nang, H. Q., & Hirase, S. (1996). Cultivation and carrageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* in the waters of Vietnam. *Journal of Applied Phycology*, 8(4-5), 431-437. <https://doi.org/10.1007/BF02178588>
- Palupi, N.S., Indrastuti, N. A., Uju, & Syamsir, E. (2020). Optimasi penggunaan karagenan dan kalsium sulfat pada pembuatan tahu sutra dalam pengembangan pangan fungsional. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(2): 272-285.
- Prado-Fernández, J., Rodríguez-Vázquez, J. A., Tojo, E., & Andrade, J. M. (2003). Quantitation of κ -, ι - and λ -carrageenans by mid-infrared spectroscopy and PLS regression. *Analytica Chimica Acta*, 480(1), 23-37. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)01592-1](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)01592-1)
- Qian, Z.-G. (2014). Cellulase-assisted extraction of polysaccharides from *Cucurbita moschata* and their antibacterial activity. *Carbohydrate Polymers*, 101, 432-434. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.09.071>
- Qotimah, K., Dewi, E. N., & Purnamayati, L. (2020). Karakteristik mutu *edible film* karagenan dengan penambahan minyak atsiri bawang putih (*Allium sativum*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 23(1), 1-9
- Rafiquzzaman, S.M., Rahman, Md.A., Kong, I.S. (2017). Ultrasonic-assisted extraction of carrageenan in seaweed polysaccharides: isolation, biological and biomedical applications. (Eds). Venkatesan, J., Anil, S., Kim, S.K. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. Pp.75-81.
- Ramadhan, W., Uju, U., Hardiningtyas, S. D., Pari, R. F., Nurhayati, N., & Sevisa, D. (2022). Ekstraksi polisakarida ulvan dari rumput laut *Ulva lactuca* berbantu gelombang ultrasonik pada suhu rendah. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 25(1), 132-142. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v25i1.40407>
- Ren, X., Ma, H., Mao, S., & Zhou, H. (2014). Effects of sweeping frequency ultrasound treatment on enzymatic preparations of ACE-inhibitory peptides from zein. *European Food Research and Technology*, 238(3), 435-442. <https://doi.org/10.1007/s00217-013-2118-3>
- Rhein-Knudsen, N., Ale, M., & Meyer, A. (2015). Seaweed hydrocolloid production: an update on enzyme assisted extraction and modification technologies. *Marine Drugs*, 13(6), 3340-3359. <https://doi.org/10.3390/md13063340>
- Rosarina, D., Narawangsa, D. R., Chandra, N. S. R., Sari, E., & Hermansyah, H. (2022). Optimization of ultrasonic—assisted extraction (UAE) method using natural deep eutectic solvent (NADES) to increase curcuminoid yield from *Curcuma longa* L., *Curcuma xanthorrhiza*, and *Curcuma mangga* Val. *Molecules*, 27(18), 6080. <https://doi.org/10.3390/molecules27186080>
- Rudke, A. R., da Silva, M., Andrade, C. J. de, Vitali, L., & Ferreira, S. R. S. (2022). Green extraction of phenolic compounds and carrageenan from the red alga *Kappaphycus alvarezii*. *Algal Research*, 67, 102866. <https://doi.org/10.1016/j.algalres.2022.102866>



- algal.2022.102866
- Shrgawi, N., Shamsudin, I. J., Hanibah, H., Noor, S. A. M., & Kasim, N. (2021). Purification on Kappa Carrageenan by Re-Precipitation Technique. *Solid State Phenomena*, 317(6), 327-332. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/SSP.317.327>
- Siregar, R.F., Santoso, J. & Uju. (2016). Karakteristik fisiko kimia kappa karagenan hasil degradasi menggunakan hidrogen peroksida. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia* 19(3), 256-266. <https://doi.org/10.17844/jphpi.2016.19.3.256>.
- Stambuk, P., Tomaskovic, D., Ivana, T., Luna, M., Domagoj, S. Kontic, K.J. (2016). Application of pectinases for recovery of grape seeds phenolics. *Biotech*, 6(2), 224. <https://doi.org/10.1007/s13205-016-0537-0>.
- Subaryono, Utomo, B. S. B., & Basmal, J. (2021). Quality of carrageenan extracted from *Eucheuma cottonii* cultivated at three different locations in Lampung. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 919(1), 012047. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/919/1/012047>
- Subhedar, P. B., & Gogate, P. R. (2014). Enhancing the activity of cellulase enzyme using ultrasonic irradiations. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 101, 108–114. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2014.01.002>
- Suharto, S., Purnamayati, L., Sumardianto, & Arifin, M. H (2024). Aplikasi *edible coating* karagenan dengan penambahan kunyit dan kitosan pada bandeng cabut duri. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(6), 511-525. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i6.52898>
- Sujuliyani, Pebriyanti, P., & Sipahutar, Y. H. (2021). Formulasi kapa dan iota karagenan dalam pembuatan produk kosmetik pelembap bibir. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 24(3), 330-336.
- Suptijah, P., Suseno, S.H., Kurniawati, K. (2012). Aplikasi karagenan sebagai cangkang kapsul keras alternatif pengganti kapsul gelatin. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 15(3). <https://doi.org/10.17844/jphpi.v15i3.21434>
- Tarman, K., Supinah, P., Dewanti, E. W., Santoso, J., & Nurjanah. (2024). Characteristics of carrageenan from seaweed hydrolysis using marine fungi as hard-shell capsule material. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 27(8), 642-653. <http://dx.doi.org/10.17844/jphpi.v27i8.51946>
- Tarman, K., Sadi, U., Santoso, J. & Hardjito, L. (2020). Carrageenan and its enzymatic extraction in encyclopedia of marine biotechnology: Five volume set, First edition. Edited by Se-Kwon Kim. John Wiley & Sons Ltd., USA, pp. 147 – 159.
- Toumi, S., Yahoum, M. M., Lefnaoui, S., Hadjsadok, A., Sid, A. N. E. H., Hassein-Bey, A. H., Amrane, A., Zhang, J., Assadi, A. A., & Mouni, L. (2023). Development of new alkylated carrageenan derivatives: physicochemical, rheological, and emulsification properties assessment. *Sustainability*, 15(8), 6473. <https://doi.org/10.3390/su15086473>
- Uddin, A. H., Khalid, R. S., Alaama, M., Abdulkader, A. M., Kasmuri, A., & Abbas, S. A. (2016). Comparative study of three digestion methods for elemental analysis in traditional medicine products using atomic absorption spectrometry. *Journal of Analytical Science and Technology*, 7(1), 6. <https://doi.org/10.1186/s40543-016-0085-6>
- Uju, Prasetyaningsih, E., Santoso, J., Kamiya, N., & Oshima, T. (2019). Preparation and characterization of semi-refined carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* seaweed bleached by Peracetic Acid. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 278(1), 012077. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/278/1/012077>
- Uju, U., Santoso, J., Ramadhan, W., & Abrory, M. F. (2018). Extraction of native agar from *Gracillaria* sp with ultrasonic acceleration at low temperature. *Jurnal*

- Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 21(3), 414. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v21i3.24711>
- Ummat, V., Tiwari, B. K., Jaiswal, A. K., Condon, K., Garcia-Vaquero, M., O'Doherty, J., O'Donnell, C., & Rajauria, G. (2020). Optimisation of ultrasound frequency, extraction time and solvent for the recovery of polyphenols, phlorotannins and associated antioxidant activity from brown seaweeds. *Marine Drugs*, 18(5), 250. <https://doi.org/10.3390/md18050250>
- van Sittert, D., Lufu, R., Mapholi, Z., & Goosen, N. J. (2024). Ultrasound-assisted extraction of alginate from *Ecklonia maxima* with and without the addition of alkaline cellulase – factorial and kinetic analysis. *Journal of Applied Phycology*, 36(5), 2781–2793. <https://doi.org/10.1007/s10811-024-03276-0>
- Varadarajan, S., Ramli, N., Ariff, A., Saaid, M. & Yasir, S.M. (2009). Development of high yielding carrageenan extraction method from *Eucheuma Cottonii* using cellulase and *Aspergillus niger*. Prosiding Seminar Kimia Bersama UKM-ITB ed A Isak and J salimon (Selangor: Universiti Kebangsaan Malaysia) pp. 462-469.
- Viana, A., Nosedá, M., Duarte, M., & Cerezo, A. (2004). Alkali modification of carrageenans. Part V. The iota-nu hybrid carrageenan from and its cyclization to iota-carrageenan. *Carbohydrate Polymers*, 58(4), 455–460. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2004.08.006>
- Villanueva, R. D., Hilliou, L., & Sousa-Pinto, I. (2009). Postharvest culture in the dark: An eco-friendly alternative to alkali treatment for enhancing the gel quality of κ/ι -hybrid carrageenan from *Chondrus crispus* (Gigartinales, Rhodophyta). *Bioresource Technology*, 100(9), 2633–2638. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.11.053>
- Vo, T. P., Nguyen, N. T. U., Le, V. H., Phan, T. H., Nguyen, T. H. Y., & Nguyen, D. Q. (2023). Optimizing ultrasonic-assisted and microwave-assisted extraction processes to recover phenolics and flavonoids from passion fruit peels. *ACS Omega*, 8(37), 33870–33882. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c04550>
- Wang, F., Zhang, Y., Xu, L., & Ma, H. (2020). An efficient ultrasound-assisted extraction method of pea protein and its effect on protein functional properties and biological activities. *LWT*, 127, 109348. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109348>
- Wang, W., Gao, Y.-T., Wei, J.-W., Chen, Y.-F., Liu, Q.-L., & Liu, H.-M. (2021). Optimization of ultrasonic cellulase-assisted extraction and antioxidant activity of natural polyphenols from passion fruit. *Molecules*, 26(9), 2494. <https://doi.org/10.3390/molecules26092494>
- Wang, X., Su, Y., Su, J., Xue, J., Zhang, R., Li, X., Li, Y., Ding, Y., & Chu, X. (2023). Optimization of Enzyme-assisted aqueous extraction of polysaccharide from *Acanthopanax senticosus* and comparison of physicochemical properties and bioactivities of polysaccharides with different molecular weights. *Molecules*, 28(18), 6585. <https://doi.org/10.3390/molecules28186585>
- Yin, H., Zhang, Y., Hu, T., Li, W., Deng, Y., Wang, X., Tang, H., Zhao, L., & Yan, G. (2023). Optimization of cellulase-assisted extraction of total flavonoids from equisetum via response surface methodology based on antioxidant activity. *Processes*, 11(7), 1978. <https://doi.org/10.3390/pr11071978>
- Youssof, L., Lallemand, L., Giraud, P., Soulé, F., Bhaw-Luximon, A., Meilhac, O., D'Hellencourt, C. L., Jhurry, D., & Couprie, J. (2017). Ultrasound-assisted extraction and structural characterization by NMR of alginates and carrageenans from seaweeds. *Carbohydrate Polymers*, 166, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.01.041>
- Zhang, J., Langford, Z. & Waldron, S. (2024). The global carrageenan industry in Globalization and Livelihood Transformations in the Indonesian Seaweed Industry, Langford, Z. (Ed.)



Earthscan Food and Agriculture, ISBN 978-1-003-82343-8, Routledge, London, <https://doi.org/10.4324/9781003183860>.
Zhao, L., Ouyang, D., Cheng, X., Zhou, X., Lin, L., Wang, J., Wu, Q., & Jia, J. (2023). Multi-frequency ultrasound-assisted

cellulase extraction of protein from mulberry leaf: Kinetic, thermodynamic, and structural properties. *Ultrasonics Sonochemistry*, 99, 106554. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2023.106554>