



PENGARUH JENIS DAN KONSENTRASI ASAM ORGANIK TERHADAP EFISIENSI EKSTRAKSI ASAM GLUTAMAT DAN SENYAWA BIOAKTIF DARI SIPOU (*Siphonosoma australe-australe*)

Muhammad Yusuf¹, Hardiwinoto², Siti Zahara Rosli³, Diode Yonata¹, Bobby Pranata^{4*}

¹Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi Pertanian

Universitas Muhammadiyah Semarang

Jalan Kedungmundu No.18, Kedungmundu, Semarang, Jawa Tengah Indonesia 50273

²Program Studi Akuntansi, Fakultas Ekonomi dan Bisnis, Universitas Muhammadiyah Semarang

Jalan Kedungmundu No.18, Kedungmundu, Semarang, Jawa Tengah Indonesia 50273

³Food Service Technology Study Program, Faculty of Health and Life Sciences, Management & Science

University, University Drive, Off Persiaran Olahraga, Shah Alam, Selangor, Malaysia 40100

⁴Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Sriwijaya

Jalan Raya Palembang - Prabumulih No.KM. 32, Indralaya Indah, Sumatra Selatan Indonesia 30862

Diterima: 28 Mei 2025/Disetujui: 1 Oktober 2025

*Korespondensi: bobyprnt@fp.unsri.ac.id

Cara sitasi (APA Style 7th): Yusuf, M., Hardiwinoto, Rosli, S. Z., Yonata, D., & Pranata, B. (2025). Pengaruh jenis dan konsentrasi asam organik terhadap efisiensi ekstraksi asam glutamat dan senyawa bioaktif dari sipou (*Siphonosoma australe-australe*). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(10), 853-866. <http://dx.doi.org/10.17844/mbj25v10>

Abstrak

Sipou (*Siphonosoma australe-australe*) merupakan biota laut jenis moluska yang melimpah di perairan Indonesia namun masih terbatas pemanfaatannya. Sipou mengandung asam glutamat dan aktivitas antioksidan yang dapat diekstrak dengan asam. Penelitian ini bertujuan menentukan jenis dan konsentrasi asam organik terbaik untuk mengekstraksi asam glutamat dan senyawa bioaktif dari sipou. Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap faktorial (RALF) dengan perlakuan jenis asam organik (laktat, asetat, sitrat) dan konsentrasi (1%, 3%, 5%) dengan tiga ulangan. Hasil menunjukkan bahwa jenis dan konsentrasi asam organik berpengaruh nyata terhadap kadar protein, asam glutamat, aktivitas antioksidan, dan karakteristik warna ($p < 0,05$). Perlakuan menggunakan asam sitrat 3% menghasilkan kadar asam glutamat tertinggi (6,15 mg/100 mL) dan aktivitas antioksidan kuat, sekaligus memberikan warna ekstrak lebih pekat dibandingkan pelarut lain. Keunggulan ini berkaitan dengan kemampuan asam sitrat dalam memecah struktur protein dan menjaga kestabilan senyawa bioaktif. Dengan demikian, asam sitrat 3% direkomendasikan sebagai pelarut optimal untuk memperoleh ekstrak sipou berkualitas tinggi yang potensial diaplikasikan dalam industri pangan fungsional dan farmasi.

Kata kunci: antioksidan, efektivitas pelarut, protein, pangan fungsional, stabilitas ekstrak

Effect of Type and Concentration of Organic Acids on the Extraction Efficiency of Glutamic Acid and Bioactive Compounds from Sipou (*Siphonosoma australe-australe*)

Abstract

Sipou (*Siphonosoma australe-australe*) is a marine mollusk abundant in Indonesian waters, but its utilization is still limited. Sipou contains glutamic acid and has antioxidant activities that can be extracted with acid. This study aimed to determine the optimal type and concentration of organic acids for extracting glutamic acid and bioactive compounds from sipou. The study used a completely randomized factorial design (RALF) with treatments of organic acid types (lactic, acetic, and citric acid) and concentrations (1%, 3%, and 5%) with three replications. The results showed that the type and concentration of organic acids

significantly affected the levels of protein and glutamic acid, antioxidant activity, and color characteristics ($p < 0.05$). Treatment with 3% citric acid resulted in the highest glutamic acid content (6.15 mg/100 mL) and strong antioxidant activity, while also providing a more concentrated extract color compared to other solvents. This advantage is related to the ability of citric acid to break down protein structures and maintain the stability of the bioactive compounds. Thus, 3% citric acid is recommended as the optimal solvent for obtaining high-quality sipou extract that has the potential for application in the functional food and pharmaceutical industries.

Keywords: chewiness, *Eucheuma cottonii*, gelling agent, hedonic test, texture

PENDAHULUAN

Sipuncula atau yang dikenal dengan cacing tanah kacang merupakan hewan invertebrata laut yang memiliki perilaku unik dan potensi yang luar biasa. Hewan ini dinamakan demikian karena kemampuannya yang memasukkan sebagian tubuhnya ke dalam substrat, menyerupai kacang tanah. Keberadaannya yang melimpah di berbagai perairan Indonesia, termasuk pesisir Pantai Toronipa, Provinsi Sulawesi Tenggara, menjadikannya salah satu keanekaragaman hayati alam yang sangat bernilai. *Sipuncula* dikenal di daerah ini dengan nama lokal sipou, khususnya spesies *Siphonosoma australe-australe* (Nurhikma *et al.*, 2017; Fatimah *et al.*, 2021; Bahtiar *et al.*, 2024).

Pemanfaatan sipou di Indonesia masih sangat terbatas, meskipun keberadaannya melimpah, saat ini sipou hanya digunakan sebagai umpan nelayan atau dalam pengobatan tradisional (Fatimah *et al.*, 2021). Sipou memiliki potensi yang luar biasa sebagai sumber daya hayati yang bernilai tinggi, baik dari segi nutrisi maupun komponen bioaktifnya, yang dapat dimanfaatkan lebih lanjut untuk mendukung berbagai sektor. Pengelolaan yang tepat terhadap sipou dapat menjadikannya sumber daya alam yang memberikan manfaat besar bagi keberlanjutan ekonomi dan ekosistem Indonesia.

Sipou diketahui mengandung berbagai jenis asam amino, dan asam glutamat merupakan asam amino non-esensial dengan konsentrasi tertinggi, mencapai 6,53% pada sipou segar dan meningkat hingga 8,53% pada hasil *freeze dry* (Nurhikma *et al.*, 2017). Asam glutamat dikenal berperan penting sebagai *neurotransmitter* eksitatori pada sistem saraf pusat serta terlibat dalam metabolisme nitrogen tubuh (Arwani, 2015). Kandungan protein dan asam amino tersebut

mendukung pemanfaatan sipou sebagai bahan pangan bernilai tinggi. Selain itu, sipou juga mengandung berbagai komponen bioaktif dengan aktivitas antioksidan yang berfungsi sebagai imunomodulator, memberikan efek biologis seperti antiinflamasi, antimikrob, dan perlindungan terhadap stres oksidatif (Fatimah *et al.*, 2021; Dewi *et al.*, 2022). Potensi bioaktif ini membuka peluang pengembangan sipou di bidang pangan fungsional dan farmasi.

Pemanfaatan biota laut sebagai sumber bioaktif sejalan dengan tren global dalam mengeksplorasi potensi kelautan untuk ketahanan pangan dan peningkatan kesehatan masyarakat, di mana inovasi diarahkan pada penciptaan produk bernilai tinggi yang dapat memenuhi kebutuhan pasar global (Ghosh *et al.*, 2022). Berbagai bioaktif dari hewan laut, termasuk sipou, telah dilaporkan memiliki aktivitas farmakologis penting seperti antihipertensi, antikanker, dan antiobesitas (Rabiei *et al.*, 2017; Seca *et al.*, 2018). Kombinasi kandungan asam glutamat dan senyawa bioaktif tersebut menjadikan sipou memiliki potensi besar sebagai bahan baku produk pangan fungsional, suplemen kesehatan, maupun bahan farmasi inovatif.

Ekstraksi asam glutamat dari sipou dilakukan melalui metode maserasi, yaitu teknik perendaman bahan dalam pelarut tertentu untuk memperoleh senyawa target secara efisien. Metode ini bertujuan menghasilkan ekstrak dengan kadar asam glutamat tinggi sekaligus mempertahankan komponen bioaktif lain sehingga berpotensi diaplikasikan dalam pangan fungsional. Pelarut berbasis asam organik banyak digunakan dalam proses ini karena mampu meningkatkan efisiensi ekstraksi sekaligus menjaga stabilitas komponen yang dihasilkan (Hidayat & Wulandari, 2021; Stanoeva *et al.*, 2020). Variasi jenis dan konsentrasi asam



organik diketahui berperan penting terhadap kuantitas asam glutamat yang diperoleh, sebagaimana dilaporkan pada studi ekstraksi protein dari ulat sutera yang menunjukkan perbedaan kadar hasil ekstrak berdasarkan jenis asam yang digunakan (Mandila *et al.*, 2013).

Selain itu, konsentrasi asam memberikan pengaruh signifikan terhadap efisiensi ekstraksi, meskipun penggunaan konsentrasi yang terlalu tinggi berpotensi menyebabkan degradasi senyawa bioaktif sehingga menurunkan kualitas ekstrak. Oleh karena itu, optimasi jenis dan konsentrasi asam organik menjadi langkah krusial untuk memperoleh ekstrak sipou dengan kandungan asam glutamat yang tinggi tanpa mengurangi integritas komponen bioaktif. Keberuan penelitian ini terletak pada penggunaan asam organik dalam ekstraksi asam glutamat dari sipou, yang hingga kini belum pernah dilaporkan, sehingga kajian ini difokuskan pada pengaruh variasi jenis dan konsentrasi asam organik terhadap efisiensi ekstraksi guna memperoleh kondisi optimal yang dapat menghasilkan ekstrak berkualitas tinggi. Penelitian ini bertujuan menentukan jenis dan konsentrasi asam organik terbaik untuk mengekstraksi asam glutamat dan senyawa bioaktif dari sipou.

BAHAN DAN METODE

Ekstraksi Sipou

Ekstraksi sipou mengacu pada penelitian Mandila (2013) yang dimodifikasi. Sipou yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari perairan pesisir Kota Kendari, Sulawesi Tenggara. Sampel sipou segar dikumpulkan secara acak dari nelayan setempat, kemudian dibersihkan dari kotoran dan cangkangnya. Sampel yang telah melalui proses pengeringan, diperoleh sipou kering dengan bobot sekitar 5 kg, yang selanjutnya digiling menggunakan disc mill (Agrowindo FFC-23) hingga diperoleh tepung berukuran 60 mesh. Sampel sebanyak 100 g diekstraksi selama 36 jam menggunakan pelarut asam asetat (CH_3COOH , Merck), asam laktat ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$, Merck), dan asam sitrat ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, Merck) dengan konsentrasi 1%, 3%, dan 5%, dengan akuades sebagai kontrol, semuanya

dengan volume delapan kali berat sampel (1:8) (diulang sebanyak tiga kali). Selama perendaman, semua sampel disimpan dalam lemari pendingin (Panasonic). Setelah mencapai waktu perendaman 36 jam, hasil maserasi disaring menggunakan kertas *whatman*. Kemudian, ekstrak dipisahkan menggunakan sentrifus (PLC 05, Gemmy-Taiwan) berkecepatan tinggi (4000 rpm) pada suhu 10°C selama 10 menit. Selanjutnya, disaring menggunakan kertas saring (Whatman) untuk mendapatkan berat basah ekstrak sipou.

Kadar Protein

Penentuan kadar protein diawali dengan pengambilan larutan standar BSA (konsentrasi 0; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08; dan 0,1 mg/mL) dan supernatan sampel masing-masing sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 5 mL pereaksi Lowry B. Campuran dihomogenkan dan didiamkan pada suhu ruang selama 10 menit. Kemudian ditambahkan 0,5 mL pereaksi Lowry A, campuran dikocok dan didiamkan selama 20 menit. Semua larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer (Shimadzu UV Vis-1601, Japan) pada panjang gelombang 660 nm (Harjanto, 2017).

Kandungan Asam Glutamat

Analisis kandungan L-glutamat dilakukan menggunakan kit uji asam L-glutamat dengan mengukur peningkatan absorbansi pada panjang gelombang 492 nm menggunakan spektrofotometer (Shimadzu UV Vis-1601, Japan). Sampel sebanyak 0,1 mL yang telah diencerkan dengan 2 mL air suling dicampur dengan 0,5 mL larutan 1 (mengandung 35 mL buffer pH 8,6 dan 0,02% natrium azida b/v), 0,2 mL larutan 2 (terdiri dari nikotinamida-adenin dinukleotida/ NAD⁺ dan iodonitrotetrazolium klorida/ INT), dan 0,05 mL suspensi 3 (diaforase). Campuran ini didiamkan selama 2 menit, kemudian absorbansi awal (A1) diukur pada 492 nm. Selanjutnya, ditambahkan larutan 4 (glutamat dehidrogenase/GIDH) sebanyak 0,05 mL, dan campuran didiamkan hingga reaksi selesai (sekitar 8–10 menit) sebelum

diukur absorbansi akhir (A₂). Nilai perubahan absorbansi (ΔA L-glutamat) diperoleh dari selisih A₂ dan A₁ (Nurhidajah *et al.*, 2021).

pH Ekstrak

Pengukuran nilai pH dilakukan mengacu pada metode Park & Kim (2016). Sampel sejumlah 1 mL diukur dan nilai pH dicatat menggunakan pH meter bangku Hanna HI 2211 (Hanna Instruments Ltd.). Sebelum pengukuran, pH meter dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan larutan buffer standar untuk memastikan hasil yang akurat dan konsisten.

Senyawa Bioaktif

Teknik kolorimetri Folin-Ciocalteu (Thanuja & Parimalavalli, 2020) digunakan untuk menentukan total kandungan fenolik. Kandungan fenolik sampel diekstraksi menggunakan metanol 1:20 (b/v) dengan pengadukan konstan selama 15 menit. Sampel sebanyak 0,2 mL dioksidasi dengan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu 0,5 N dan dinetralkan dengan natrium karbonat jenuh. Larutan didiamkan selama satu jam pada suhu kamar, kemudian warna biru yang dihasilkan diukur menggunakan spektrofotometer (Shimadzu UV Vis-1601, Japan) pada absorbansi 760 nm. Kurva standar asam galat menjadi dasar kuantifikasi. Hasilnya dinyatakan dalam satuan mg GAE/100 g. Kadar flavonoid sipou diukur menggunakan metodologi Pengkumsri *et al.* (2015). Etanol 0,5 mL dan filtrat 0,5 mL diambil lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi.

Proses dilanjutkan dengan penambahan 1,0 mL AlCl₃ 2% ke dalam larutan, kemudian campuran tersebut didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Pada absorbansi 415 nm, pengukuran absorbansi larutan dibaca. Quercetin berfungsi sebagai kurva referensi. Konsentrasi flavonoid sipou dilaporkan dalam mg QE/g. Penentuan kapasitas penangkal radikal DPPH mengacu pada metode Waewkum & Singthong (2021). Sampel (0,2 mL) dicampur dengan 3,9 mL DPPH encer (1:10). Setiap campuran dibiarkan dalam gelap selama 30 menit. Penurunan absorbansi dicatat

pada 517 nm menggunakan spektrofotometri (Shimadzu UV Vis-1601, Jepang). Aktivitas antioksidan adalah persentase aktivitas penangkal radikal DPPH (%RSA). Variasi sampel dibuat dengan konsentrasi dua kelipatan (31,25; 62,5; 125; 250; dan 500 µg/mL) dan mengukur penghambatan pada 50% untuk mengukur IC₅₀.

Pengukuran Warna

Proses pengukuran warna dilakukan menggunakan Minolta CR-310 Chromameter yang diproduksi oleh Konica Minolta Business Solutions Asia Pte Ltd. Sebelum digunakan untuk pembacaan data, alat ini terlebih dahulu dikalibrasi dengan plat keramik putih standar yang memiliki nilai parameter warna sebagai berikut: L* = 94,95; a* = 0,14; dan b* = 0,27; Perhitungan parameter warna meliputi sudut rona (H°) dan kroma (C°) yang masing-masing dilakukan dengan rumus sebagai berikut: H° = tan⁻¹(a*/b*) untuk menentukan sudut rona, dan C° = (a² + b²)^{1/2} untuk menghitung nilai kroma. Sudut rona (H°) berfungsi untuk mengenali atau mengidentifikasi jenis warna berdasarkan spektrum warna tertentu, seperti merah, kuning, hijau, dan biru. Sedangkan kroma (C°) digunakan untuk membedakan intensitas warna, yaitu apakah warna tampak cerah atau cenderung kusam. Prosedur pengujian warna mengaju pada Nurhidajah *et al.* (2021).

Analisis Data

Percobaan dilakukan sebanyak tiga kali, dengan hasil yang ditampilkan berupa rata-rata ± simpangan baku. Perlakuan dalam penelitian ini terdiri atas jenis pelarut asam organik (laktat, asetat, sitrat, serta akuades sebagai kontrol) dan konsentrasi (1%, 3%, dan 5%), yang disusun berdasarkan metode rancangan acak lengkap faktorial (RALF). Data kuantitatif dihimpun dan dilakukan teknik analisis varians (ANOVA) pada taraf signifikansi 95%. Analisis data dilakukan pada program SPSS 22.0 for Windows dan dilakukan pengujian lebih lanjut dengan pendekatan *duncan multiple range test* (DMRT) apabila terdapat perbedaan (Nurhidajah *et al.*, 2021).



HASIL DAN PEMBAHASAN

Morfologi Sipou

Sipou termasuk dalam filum *Sipuncula*, yaitu kelompok invertebrata laut yang dikenal sebagai *peanut worm* atau cacing tanah laut. Tubuhnya silindris memanjang, lunak, tidak bersegmen, dan mampu berkontraksi menyerupai kacang tanah saat terancam, dengan panjang tubuh dewasa 8–20 cm dan diameter 0,5–1,5 cm berwarna cokelat muda hingga kehijauan tergantung habitatnya. Struktur tubuh sipou terdiri atas dua bagian utama, yaitu *introvert* dan *trunk* (batang tubuh), di mana *introvert* merupakan bagian depan yang dapat ditarik masuk ke dalam batang tubuh serta dilengkapi tentakel halus di sekitar mulut untuk menangkap partikel organik dari sedimen, sedangkan *trunk* mengandung organ dalam seperti sistem pencernaan berbentuk U, nefridium, dan gonad tunggal. Permukaan tubuhnya dilapisi lendir dan kutikula tipis yang berfungsi menjaga kelembaban, melindungi dari abrasi, serta membantu pergerakan di substrat berlumpur. Sipou hidup di zona intertidal hingga subtidal dangkal, terutama pada sedimen lumpur halus hingga pasir berlumpur dengan kedalaman liang 10–30 cm, bersifat *burrower aktif* yang mampu menyesuaikan diri terhadap fluktuasi suhu dan salinitas pesisir. Morfologi tubuhnya yang lentur dan tidak bersegmen memungkinkan adaptasi yang baik terhadap lingkungan berlumpur, menjadikannya biota indikator ekologis penting di ekosistem pesisir tropis (Fatimah *et al.*, 2021; Bahtiar *et al.*, 2024).

Kandungan Protein

Hasil ekstraksi protein sipou pada penelitian ini berkisar antara 7,98 hingga 34,47 mg/100 mL, dengan perbedaan yang sangat nyata antar perlakuan. Variasi ini dipengaruhi

oleh beberapa faktor, terutama jenis dan konsentrasi asam organik yang digunakan dalam proses ekstraksi. Penggunaan asam organik sebagai pelarut telah menunjukkan keberhasilan dalam mengekstrak protein dari berbagai sumber biota laut. Asam sitrat terbukti mampu mengekstrak protein dari makroalga cokelat *Ascophyllum nodosum* dan *Fucus vesiculosus* dengan hasil yang kompetitif dibandingkan pelarut anorganik, bahkan memberikan keunggulan karena mampu meningkatkan perolehan asam amino bebas yang berperan penting sebagai komponen cita rasa umami. Hal ini memperlihatkan efektivitas asam sitrat sebagai pelarut hijau yang ramah lingkungan sekaligus fungsional dalam meningkatkan nilai gizi dan sensoris ekstrak protein alga.

Asam laktat menunjukkan keberhasilan dalam mengekstrak kolagen dari kulit ikan cobia (*Rachycentron canadum*), dengan hasil ekstraksi protein yang tinggi serta tetap mempertahankan sifat fisikokimia kolagen yang dihasilkan, sehingga berpotensi besar sebagai sumber protein fungsional dari limbah perikanan. Sementara itu, penggunaan asam asetat dalam ekstraksi gelembung renang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus sp.*) mampu menghasilkan kolagen dengan kandungan protein yang sangat tinggi dan profil asam amino khas kolagen, menunjukkan efektivitas asam asetat dalam melepaskan fraksi protein dari jaringan ikannya (Hadinoto *et al.*, 2019; Sukeri *et al.*, 2020; Ummat *et al.*, 2021).

Kandungan protein tertinggi terdapat pada pelarut asam sitrat, hal ini sejalan dengan hasil studi Fatiroi *et al.* (2023) tentang ekstraksi ikan *unicorn* (*Naso reticulatus* Randall). Asam sitrat memiliki keunggulan dalam hal kemampuannya mendonorkan proton yang berperan penting dalam meningkatkan interaksi antara asam organik dengan protein



Figure 1 Fresh sipou

Gambar 1 Sipou segar

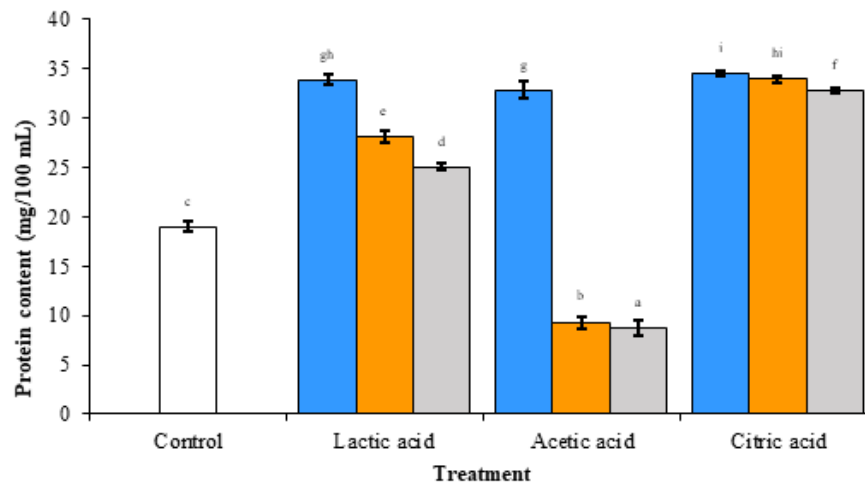


Figure 2 Protein content of sipou extract based on the solvent type and concentration; 0% (□), 1% (■), 3% (■), and 5% (■); Different superscripts showed a significant difference ($p < 0.05$).

Gambar 2 Kandungan protein ekstrak sipou berdasarkan jenis dan konsentrasi pelarut; 0% (□), 1% (■), 3% (■), dan 5% (■); Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

pada berbagai tingkat pH. Sifat ini membuat asam sitrat untuk secara efektif mengganggu struktur protein, baik pada tingkat sekunder maupun tersier, sehingga mempercepat proses ekstraksi. Selain itu, asam sitrat berfungsi untuk membentuk ikatan silang pada protein, yang berkontribusi pada stabilisasi struktur protein selama ekstraksi. Ikatan silang ini tidak hanya menjaga integritas protein selama proses tetapi juga meningkatkan sifat fungsional protein, seperti kelarutan dan kemampuan mengemulsi, yang memfasilitasi pemisahan dan pengambilan protein (Mulyani *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2018).

Hal ini menjadikan asam sitrat sebagai pilihan yang lebih baik dibandingkan dengan asam organik lainnya dalam meningkatkan hasil ekstraksi protein. Sebaliknya, peningkatan konsentrasi asam organik cenderung menurunkan kadar protein yang diekstraksi. Penelitian lain menunjukkan bahwa konsentrasi larutan asam yang digunakan pada proses perendaman berpengaruh signifikan terhadap pemecahan rantai polimer asam amino pada ambang batas tertentu (Muyasyaroh & Jaziri, 2020). Konsentrasi optimal menyebabkan pengaruh denaturasi protein menjadi lebih terbatas, yang memungkinkan struktur tersier protein terpecah lebih efisien serta meningkatkan kelarutan dan pelepasan protein ke dalam

larutan. Hal ini menyebabkan peningkatan kandungan protein terlarut dalam ekstrak. Namun, jika konsentrasi asam terlalu tinggi, dapat terjadi efek denaturasi berlebihan, yang berujung pada degradasi protein lebih lanjut. Pada kondisi tersebut, protein yang lebih besar dipecah menjadi peptida atau asam amino bebas yang lebih kecil, sehingga menyebabkan penurunan jumlah protein utuh dalam ekstrak (Daronkola & Verde, 2021). Oleh karena itu, pengaturan konsentrasi asam yang tepat sangat penting untuk mencapai hasil ekstraksi protein yang optimal.

Kandungan Asam Glutamat

Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggunaan pelarut sitrat 1% menghasilkan kandungan asam glutamat paling tinggi dibandingkan dengan pelarut lainnya. Secara kuantitatif, hasil ekstraksi asam glutamat sipou bervariasi antara 0,83 sampai dengan 6,24 mg/100mL, hasil tersebut sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut, konsentrasi pelarut, dan kondisi proses ekstraksi yang diterapkan. Pemilihan pelarut yang tepat sangat penting karena karakteristik kimia pelarut memengaruhi kelarutan dan pelepasan asam glutamat dari matriks protein. Asam sitrat diketahui memiliki kemampuan yang baik dalam melarutkan asam glutamat karena sifatnya sebagai asam lemah yang dapat

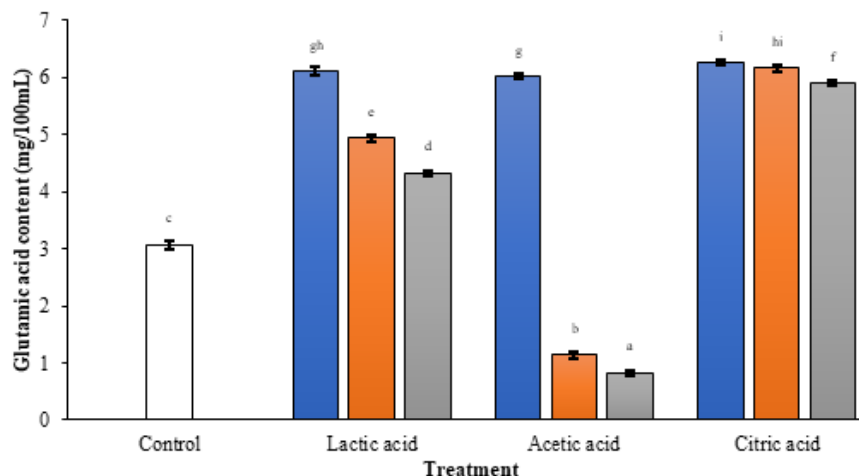


Figure 3 Glutamic acid content of sipou extract based on the solvent type and concentration; 0% (□), 1% (■), 3% (■), and 5% (■); Different superscripts showed a significant difference

Gambar 3 Kandungan asam glutamat ekstrak sipou berdasarkan jenis dan konsentrasi pelarut; 0% (□), 1% (■), 3% (■), dan 5% (■); Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

membentuk kompleks dengan ion logam. Mekanisme pembentukan kompleks ini dapat meningkatkan kelarutan asam glutamat secara signifikan, terutama pada kondisi tertentu.

Kemampuan asam sitrat dalam mengatur pH larutan juga turut menentukan keberhasilan ekstraksi. Kelarutan asam glutamat paling optimal pada pH sekitar 5, saat molekul asam glutamat berada dalam bentuk paling stabil (Yonata *et al.*, 2021). Stabilitas ini memudahkan proses pelepasan asam glutamat dari matriks protein dan meningkatkan efisiensi ekstraksi. Selain faktor pelarut, kandungan protein dalam sampel awal juga berpengaruh signifikan terhadap hasil ekstraksi. Asam glutamat merupakan salah satu komponen utama protein yang dilepaskan melalui hidrolisis kimia atau enzimatis. Hasil yang lebih tinggi dalam ekstraksi protein terkait juga dengan keluarnya lebih banyak asam amino bebas (termasuk asam glutamat) (Prandi *et al.*, 2023). Konsentrasi pelarut yang terlalu tinggi dapat mengurangi efisiensi ekstraksi. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh penurunan kelarutan asam glutamat dalam lingkungan yang terlalu jenuh atau ketidakseimbangan pH larutan karena pelarut yang berlebih (Daronkola & Verde, 2021).

pH Ekstrak

Jenis dan konsentrasi asam organik berperan penting dalam menentukan pH larutan ekstraksi, yang selanjutnya akan memengaruhi sifat protein dan komponen bioaktif dalam ekstrak. Asam organik yaitu asam asetat, asam sitrat, dan asam laktat sering digunakan dalam proses ekstraksi karena kemampuannya dalam menurunkan pH larutan. Makin tinggi konsentrasi asam yang digunakan, makin rendah pH larutan yang dihasilkan. Penurunan pH ini berdampak pada kelarutan protein dan stabilitas komponen bioaktif. Ekstraksi dengan asam asetat pada konsentrasi tinggi umumnya menghasilkan pH di bawah 4. Nilai pH yang terlalu rendah dapat menyebabkan denaturasi protein dan mengurangi efisiensi kelarutannya (Wang *et al.*, 2024). Sebaliknya, penggunaan asam organik pada konsentrasi rendah cenderung menghasilkan pH yang lebih mendukung stabilitas peptida dan meningkatkan kelarutan dan stabilitas protein. Kondisi pH yang ideal, yaitu antara 4 dan 6, dapat meningkatkan kelarutan protein dengan mengubah struktur dan muatan permukaannya, sehingga interaksinya dengan air menjadi lebih optimal.

Rentang pH tersebut memungkinkan banyak peptida bioaktif tetap stabil, sehingga aktivitas biologisnya dapat dipertahankan

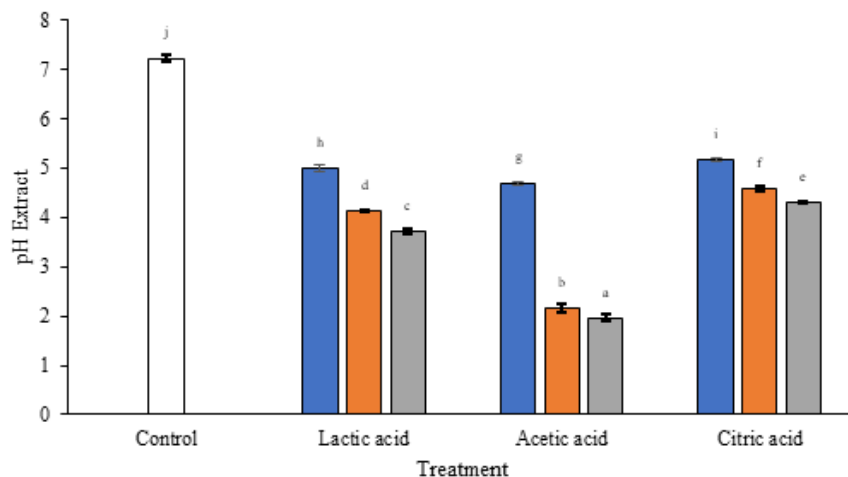


Figure 4 pH value of sipou extract based on the solvent type and concentration; 0% (□), 1% (■), 3% (■), and 5% (■); Different superscripts showed a significant difference ($p < 0.05$).

Gambar 4 Nilai pH ekstrak sipou berdasarkan jenis dan konsentrasi pelarut; 0% (□), 1% (■), 3% (■), dan 5% (■); Superskrip yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

lebih lama dan berkontribusi terhadap peningkatan nilai fungsional ekstrak (Matkawala *et al.*, 2022). Selain itu, pH yang sedang dapat meminimalkan degradasi komponen bioaktif seperti polifenol, flavonoid, dan enzim tertentu, yang umumnya rentan terhadap kondisi yang sangat asam (Friedman & Jürgens, 2000). Jenis asam organik yang digunakan juga mempengaruhi kualitas ekstrak. Asam asetat, memiliki efek denaturasi protein yang lebih agresif dibandingkan asam organik lainnya, terutama pada konsentrasi tinggi (Marudidi *et al.*, 2019). Perbedaan pH larutan asam organik pada konsentrasi yang sama ditentukan oleh kekuatan asam, yang tercermin dari nilai pKa. Asam dengan pKa rendah lebih mudah terdisosiasi, sehingga menghasilkan pH lebih rendah. Asam laktat (pKa 3,86) lebih kuat dibandingkan asam asetat (pKa 4,76) dan asam sitrat (pKa 6,40), sehingga memberikan pH larutan yang lebih rendah.

Senyawa Bioaktif

Kadar flavonoid, senyawa fenolik, dan aktivitas antioksidan dalam ekstrak bahan alam sangat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, yaitu asam asetat, asam laktat, dan asam sitrat. Flavonoid dan senyawa fenolik merupakan kelompok senyawa bioaktif yang

berperan penting dalam melindungi sel dari stres oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Penelitian terbaru menunjukkan bahwa ekstrak sipou mengandung senyawa bioaktif dengan aktivitas antioksidan yang berpotensi mendukung pencegahan kerusakan oksidatif (Suwarjoyowirayatno *et al.*, 2025). Senyawa-senyawa bioaktif berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan yang dapat membantu mencegah berbagai penyakit degeneratif, seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan gangguan neurodegeneratif (Fadaka *et al.*, 2019).

Variasi nilai IC_{50} pada ekstrak menunjukkan perbedaan kapasitas antioksidan yang berkaitan dengan efektivitas pelarut dalam mengekstraksi serta mempertahankan stabilitas senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan senyawa fenolik. Nilai IC_{50} yang rendah merefleksikan aktivitas antioksidan yang tinggi (kategori *strong*), sedangkan nilai IC_{50} yang tinggi menunjukkan aktivitas yang lebih lemah (kategori *weak*) dalam menetralkan radikal bebas. Penggunaan asam asetat menghasilkan aktivitas antioksidan cenderung berkisar pada kategori *medium* hingga *weak*. Hal ini dikarenakan sifat keasaman asam asetat yang tinggi dapat memecah dinding sel dan melepaskan senyawa fenolik serta flavonoid dalam jumlah besar, namun pada



Table 1 Bioactive components of sipou extract

Tabel 1 Komponen bioaktif ekstrak sipou

Solvent type	Phenolic (mg/g GAE)	Flavonoid (mg/g QE)	IC ₅₀ (ppm)	Antioxidant
Control	91.36±1.81 ^a	15.81±0.48 ^a	218.16	Weak
Lactic acid 1%	112.26±4.13 ^{bc}	16.74±0.32 ^a	203.49	Weak
Lactic acid 3%	112.84±3.94 ^{bc}	36.17±0.51 ^c	157.01	Weak
Lactic acid 5%	111.77±1.31 ^b	18.31±0.45 ^a	184.82	Weak
Acetic acid 1%	125.43±1.61 ^d	22.21±0.70 ^b	169.51	Weak
Acetic acid 3%	118.35±4.14 ^c	43.57±0.19 ^d	133.30	Medium
Acetic acid 5%	114.32±1.01 ^{bc}	58.31±2.52 ^e	118.50	Medium
Citric acid 1%	117.53±3.23 ^{bc}	43.05±4.47 ^d	131.55	Medium
Citric acid 3%	129.55±2.72 ^{de}	63.41±0.32 ^f	97.51	Strong
Citric acid 5%	132.02±1.51 ^e	78.67±0.64 ^g	66.39	Strong

Data are presented as mean ± standard deviation;

Values in the same column followed by different superscripts indicate significant differences (p<0.05).

saat yang sama berpotensi menyebabkan degradasi struktur senyawa tersebut. Kondisi ini menurunkan efektivitas antioksidan sehingga meningkatkan nilai IC₅₀ (Andlauer *et al.*, 2000; Stanoeva *et al.*, 2020).

Asam laktat, yang memiliki polaritas lebih rendah dibandingkan asam asetat, menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antioksidan pada tingkat medium hingga strong karena mampu melarutkan flavonoid yang memiliki gugus hidroksil lebih banyak tanpa menginduksi degradasi yang signifikan. Kemampuan pelarut ini dalam menjaga stabilitas senyawa fenolik memberikan kontribusi pada tercapainya nilai IC₅₀ yang lebih rendah (Yang *et al.*, 2012). Sementara itu, asam sitrat memperlihatkan kecenderungan menghasilkan ekstrak dengan kategori *strong* antioksidan. Asam ini mampu meningkatkan kelarutan flavonoid dan glikosida fenolik melalui mekanisme kompleksasi dengan ion logam, yang berimplikasi pada meningkatnya stabilitas senyawa bioaktif. Selain itu, sifat intrinsik asam sitrat sebagai antioksidan turut memberikan kontribusi tambahan terhadap potensi ekstrak, sehingga nilai IC₅₀ yang diperoleh relatif rendah (Salas-Pérez *et al.*, 2018; Książek, 2023; Kashtiban *et al.*, 2024; Isa *et al.*, 2024).

Warna

Pengaruh berbagai jenis pelarut asam, seperti asam asetat, asam laktat, dan asam sitrat, terhadap warna ekstrak asam glutamat dapat dianalisis melalui parameter rona dan kroma. Rona mengacu pada rona warna yang dihasilkan dalam ekstrak, sedangkan kroma menunjukkan tingkat saturasi atau intensitas warna (Zhang, 2021). Perbedaan jenis pelarut asam dapat menyebabkan perubahan struktur molekul atau interaksi kimia yang memengaruhi spektrum warna ekstrak. Asam asetat umumnya memiliki pengaruh minimal terhadap warna, sedangkan asam laktat dapat memiliki pengaruh yang lebih kuat karena adanya gugus hidroksilnya yang dapat berinteraksi dengan pigmen (Degrain *et al.*, 2020). Sementara itu, asam sitrat memiliki pengaruh yang lebih kompleks karena mengandung tiga gugus karboksil yang dapat membentuk kompleks dengan komponen dalam ekstrak (Araújo *et al.*, 2017).

Jika suatu asam meningkatkan kelarutan pigmen dalam ekstrak asam glutamat, warna yang dihasilkan akan lebih jenuh, atau kromanya akan lebih tinggi. Asam sitrat dapat meningkatkan intensitas warna dengan membentuk kompleks dengan ion

Table 2 Color characteristics of sipou extract
Tabel 2 Karakteristik warna ekstrak sipou

Solvent type	L*	Hue	Chroma	Color
Control	54.55±0.38 ^e	88.20±0.81 ^{cd}	36.14±0.27 ^c	Yellow
Lactic acid 1%	51.47±0.70 ^c	88.88±0.33 ^{de}	41.17±0.08 ^e	Yellow
Lactic acid 3%	52.79±0.69 ^d	88.55±0.41 ^{de}	38.58±0.36 ^d	Yellow
Lactic acid 5%	53.63±0.25 ^d	86.84±0.99 ^b	36.57±0.42 ^c	Yellow
Acetic acid 1%	46.51±0.21 ^a	87.49±0.48 ^{bc}	39.86±0.40 ^{de}	Yellow
Acetic acid 3%	48.24±0.92 ^b	89.31±0.23 ^e	34.22±1.03 ^b	Yellow
Acetic acid 5%	51.66±0.52 ^c	88.23±0.37 ^{cd}	29.87±0.91 ^a	Yellow
Citric acid 1%	51.66±0.21 ^c	84.63±0.03 ^a	47.03±1.63 ^g	Yellow
Citric acid 3%	57.37±0.46 ^f	84.16±0.33 ^a	43.68±1.38 ^f	Yellow
Citric acid 5%	60.25±0.36 ^g	88.70±0.52 ^{de}	39.74±1.01 ^{de}	Yellow

Data are presented as mean ± standard deviation;

Values in the same column followed by different superscripts indicate significant differences (p<0.05).

logam yang menstabilkan pigmen, sedangkan asam asetat dan asam laktat mungkin memiliki efek yang lebih lemah tergantung pada interaksinya dengan pigmen (Araújo *et al.*, 2017). Selain itu, faktor lain seperti pH larutan, interaksi dengan protein atau senyawa lain dalam ekstrak, dan stabilitas warna selama penyimpanan atau pemanasan juga berperan dalam menentukan hasil akhir (Cejudo-Bastante *et al.*, 2016). Dengan demikian, jenis dan konsentrasi pelarut asam memiliki pengaruh yang signifikan terhadap rona dan kroma ekstrak asam glutamat melalui interaksi kimia dan kelarutan pigmen.

KESIMPULAN

Jenis dan konsentrasi asam organik berpengaruh nyata terhadap efisiensi ekstraksi asam glutamat dan senyawa bioaktif dari sipou. Asam sitrat konsentrasi 3% merupakan kondisi terbaik karena menghasilkan kadar asam glutamat tertinggi (6,15 mg/100 mL), aktivitas antioksidan kuat (IC₅₀ terendah), serta warna ekstrak paling pekat. Dengan demikian, asam sitrat 3% direkomendasikan sebagai pelarut optimal untuk menghasilkan ekstrak sipou berkualitas tinggi bagi pengembangan pangan fungsional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Tim peneliti yang dipimpin oleh Muhammad Yusuf, Ph.D., dengan nomor penelitian 0095/UNIMUS.L/PG-LN/PJ.INT/2024, menyampaikan penghargaan dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Universitas Muhammadiyah Semarang atas dukungan dana yang telah diberikan untuk pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Andlauer, W., Stumpf, C., & Fürst, P. (2000). Influence of the acetification process on phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3533-3536. <https://doi.org/10.1021/jf000010j>
- Araújo, E. M. R., Coelho, F. E. B., Balarini, J. C., Miranda, T. L. S., & Salum, A. (2017). Solvent extraction of citric acid with different organic phases. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 7(03), 304-324. <https://doi.org/10.4236/aces.2017.73023>
- Arwani, M. H. (2015). Gambaran histologi korteks serebri tikus putih (*Rattus*



- Norvegicus*) jantan galur wistar setelah penghentian pajanan monosodium glutamat (MSG). [Disertasi]. Universita Tanjungpura.
- Bahtiar., Purnama, M. F., Trisnawati, R., Anjarsari, E., & Defina Mahmud, W. O. (2024). Variasi spasial kepadatan cacing kacang di Pantai Toronipa Sulawesi Tenggara. *Indonesian Journal of Agricultural Sciences*, 29(2), 269-277. <https://doi.org/10.18343/jipi.29.2.269>
- Caparino, O.A., Tang, J., Nindo, C.I., Sablani, S.S., Powers, J.R., & Fellman, J.K. (2012). Effect of drying methods on the physical properties and microstructures of mango (*Philippine 'Carabao' var.*) powder. *Journal of Food Engineering*, 111(1), 135-148. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.01.010>
- Cejudo-Bastante, M. J., Hurtado, N., Delgado, A., & Heredia, F. J. (2016). Impact of pH and temperature on the colour and betalain content of Colombian yellow pitaya peel (*Selenicereus megalanthus*). *Journal of Food Science and Technology*, 53, 2405-2413. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2215-y>
- Daronkola, H. G., & Verde, A. V. (2021). Proteins maintain hydration at high [KCl] concentration regardless of content in acidic amino acids. *Biophysical Journal*, 120(13), 2746-2762. <https://doi.org/10.1016/j.bpj.2021.05.015>
- Degrain, A., Manhivi, V., Remize, F., Garcia, C., & Sivakumar, D. (2020). Effect of lactic acid fermentation on color, phenolic compounds and antioxidant activity in African nightshade. *Microorganisms*, 8(9), 1-12. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8091324>
- Dewi, P., Habibah, N. A., Mustikaningtyas, D., Iswari, R. S., Nugrahaningsih, W. H., Marianti, A., Yuniastuti, A., Widyaningrum, P., Susanti, R., Maria, M. M. R. E. W., & Christijanti, W. (2022). Potensi senyawa aktif bahan alam. Unisma Press.
- Fadaka, A. O., Ajiboye, B. O., Adewale, I., Ojo, O. A., Oyinloye, B. E., & Okesola, M. A. (2019). Significance of antioxidants in the treatment and prevention of neurodegenerative diseases. *J Phytopharmacol*, 8(2), 75-83. <https://doi.org/10.31254/phyto.2019.8210>
- Fatimah, S. A., Asnani, A., & Suwarjoyowirayatno, S. (2021). Sipou (*Siphonosome australe-australe*): Pemanfaatannya sebagai bahan pangan. *Jurnal Fish Protech*, 4(1), 19-27. <https://doi.org/10.33772/jfp.v4i1.18139>
- Fatiroi, N. S., Jaziri, A. A., Shapawi, R., Mokhtar, R. A. M., Noordin, W. N. M., & Huda, N. (2023). Biochemical and microstructural characteristics of collagen biopolymer from unicornfish (*Naso reticulatus* Randall, 2001) bone prepared with various acid types. *Polymers*, 15(4), 1-16. <https://doi.org/10.3390/polym15041054>
- Friedman, M., & Jürgens, H. S. (2000). Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*, 48(6), 2101-2110. <http://dx.doi.org/10.1021/jf990489j>
- Ghosh, S., Sarkar, T., Pati, S., Kari, Z. A., Edinur, H. A., & Chakraborty, R. (2022). Novel bioactive compounds from marine sources as a tool for functional food development. *Frontiers in Marine Science*, 9, 1-28. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.832957>
- Hadinoto, S., Kolanus, J. P., & Idrus, S. (2019). Karakterisasi gelembung renang ikan tuna sirip kuning (*Thunnus* sp.) dan kolagen yang dihasilkan melalui ekstraksi asam asetat. *JPB Kelautan dan Perikanan*, 14(2), 129-140. <https://doi.org/10.15578/jpbkp.v14i2.589>
- Harjanto, S. (2017). Perbandingan pembacaan absorbansi menggunakan spectronic 20 D+ dan spectrophotometer UV-Vis T 60u dalam penentuan kadar protein dengan larutan standar Bsa. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 20(3), 114-116. <https://doi.org/10.14710/jksa.20.3.114-116>
- Hidayat, R., & Wulandari, P. (2021). Methods of extraction: Maceration, percolation and decoction. *Eureka Herba Indonesia*, 2(1), 68-74. <https://doi.org/10.37275/ehi>

- v2i1.15
- Isa, N. S. M., Cheok, H. Y., Mohsin, A. Z., & Maidin, N. M. M. (2024). The effect of different citric acid concentrations on physicochemical and antioxidant properties of red pitaya peel gummy candies. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(12), 9654-9663. <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i12.45>
- Kashtiban, A. E., Okpala, C. O. R., Karimidastjerd, A., & Zahedinia, S. (2024). Recent advances in nano-related natural antioxidants, their extraction methods and applications in the food industry. *Exploration of Foods and Foodomics*, 2(2), 125-154. <https://doi.org/10.37349/eff.2024.00030>
- Książek, E. (2023). Citric acid: properties, microbial production, and applications in industries. *Molecules*, 29(1), 1-38. <https://doi.org/10.3390/molecules29010022>
- Lestari, N., Manalu, L. P., Hidayat, T., Junaidi, L., Hartanto, E. S., Rienoviar, R., Saputra, S. H., Zulham, A. & Mala, D. M. (2024). The effect of citric and acetic acid treatment on gelatin production from catfish skin. In BIO Web of Conferences (Vol. 87, p. 03004). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20248703004>
- Li, T., Wang, C., Li, T., Ma, L., Sun, D., Hou, J., & Jiang, Z. (2018). Surface hydrophobicity and functional properties of citric acid cross-linked whey protein isolate: The impact of pH and concentration of citric acid. *Molecules*, 23(9), 1-11. <https://doi.org/10.3390/molecules23092383>
- Mandila, S. P., & Hidajati, N. (2013). Identifikasi asam amino pada cacing sutra (*Tubifex Sp.*) yang diekstrak dengan pelarut asam asetat dan asam laktat. *Unesa Journal of Chemistry*, 2(1), 103-108. <https://doi.org/10.26740/ujc.v2n1.p%25p>
- Maruddin, F., Malaka, R., & Prahesti, K. I. (2019, October 24–25). Study on the use of various concentration of acetic acid and different precipitation duration on casein characteristics [Conference session]. The 1st ICAGRI (International Conference on Agriculture and Bioindustry), Banda Aceh, Indonesia. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/343/1/012035>
- Matkawala, F., Nighojkar, S., & Nighojkar, A. (2022). Next-generation nutraceuticals: bioactive peptides from plant proteases. *BioTechnologia*, 103(4), 397-408. <https://doi.org/10.5114/bta.2022.120708>
- Mulyani, S., Setyabudi, F. S., Pranoto, Y., & Santoso, U. (2017). Physicochemical properties of gelatin extracted from buffalo hide pretreated with different acids. *Korean journal for food science of animal resources*, 37(5), 708-715. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2017.37.5.708>
- Muyasyaroh, H., & Jaziri, A. A. (2020, Mei 6–7). Effect of different acetic acid concentration on physicochemical characteristics of gelatin from starry trigger fish skin (*Abalistes stellaris*) [Conference session]. The 2nd International Conference on Fisheries and Marine Science (InCoFiMS), Surabaya, Indonesia. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/493/1/012039>
- Nova, Y. S., Rauf, A., Kadir, N. N., Hasnidar, & Yudha, I. P. P. W. S. (2024). Dunia bawah laut: Wawasan dan inovasi di bidang perikanan dan kelautan. Nas Media Pustaka.
- Nurhidajah., Pranata, B., Yusuf, M., & Sya'di, Y. K. (2021) Yonata D. Microencapsulation of umami flavor enhancer from Indonesian waters brown seaweed. *Current Research Nutrition Food Science*, 10(1), 349-359. <https://dx.doi.org/10.12944/CRNFSJ.10.1.29>
- Nurhikma, Nurhayati, T., & Purwaningsih, S. (2017). Kandungan asam amino, asam lemak, dan mineral cacing laut dari Sulawesi Tenggara. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 20(1), 36-44. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v20i1.16396>
- Park, S. Y., & Kim, H. Y. (2016). Effect of black rice powder levels on quality properties



- of emulsion-type sausage. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 36 (6), 737–743. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2016.36.6.737>
- Pengkumsri, N., Chaiyasut, C., Saenjum, C., Sirilun, S., Peerajan, S., Suwannalert, P., Sirisattha, S., & Sivamaruthi, B.S. (2015). Physicochemical and antioxidative properties of black, brown and red rice varieties of northern Thailand. *Food Science and Technology*, 35(2), 331–338. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.6573>
- Prandi, B., Cigognini, I. M., Faccini, A., Zurlini, C., Rodríguez, Ó., & Tedeschi, T. (2023). Comparative study of different protein extraction technologies applied on mushrooms by-products. *Food and Bioprocess Technology*, 16(7), 1570–1581. <https://doi.org/10.1007/s11947-023-03015-2>
- Rabiei, S., Nikoo, M., Rezaei, M., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). Marine-derived bioactive peptides with pharmacological activities: A Review. *Journal of Clinical & Diagnostic Research*, 11(10), 1–6. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2017/28672.10753>
- Salas-Pérez, L., Gaucín Delgado, J. M., Preciado-Rangel, P., Gonzales Fuentes, J. A., Ayala Garay, A. V., & Segura Castruita, M. Á. (2018). The application of citric acid increases the quality and antioxidant capacity of lentil sprouts. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 9(SPE20), 4301–4309. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i20.999>
- Seca, A. M., & Pinto, D. C. (2018). Overview on the antihypertensive and anti-obesity effects of secondary metabolites from seaweeds. *Marine drugs*, 16(7), 1–18. <https://doi.org/10.3390/md16070237>
- Stanoeva, J. P., Balshikevska, E., Stefova, M., Tusevski, O., & Simic, S. G. (2020). Comparison of the effect of acids in solvent mixtures for extraction of phenolic compounds from *Aronia melanocarpa*. *Natural Product Communications*, 15(7), 1–10. <https://doi.org/10.1177/1934578X20934675>
- Sukeri, N., Sampath Kumar, N. S., Shaik, M. I., & Sarbon, N. M. (2021). Extractability and physicochemical properties of cobia (*Rachycentron canadum*) skin collagen as influenced by lactic acid concentration. *Journal of Food Processing and Preservation*, 45(1), 1–8. <https://doi.org/10.1111/jfpp.15080>
- Suwarjoyowirayatno. (2025). *Peptida bioaktif dari cacing sipou (Siphonosoma australe) sebagai anti-inflamasi* [Disertasi]. Universitas Gadjah Mada.
- Thanuja, B., & Parimalavalli, R. (2020). Comparison of antioxidant compounds and antioxidant activity of native and dual modified rice flour. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11, 1203–1209. [http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11\(3\).1203-09](http://dx.doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.11(3).1203-09)
- Ummat, V., Garcia-Vaquero, M., Poojary, M. M., Lund, M. N., O'Donnell, C., Zhang, Z., & Tiwari, B. K. (2021). Green extraction of proteins, umami and other free amino acids from brown macroalgae *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. *Journal of Applied Phycology*, 33(6), 4083–4091. <https://doi.org/10.1007/s10811-021-02569-y>
- Waewkum, P., & Singthong, J. (2021). Functional properties and bioactive compounds of pigmented brown rice flour. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*, 26, 100289. <https://doi.org/10.1016/j.bcdf.2021.100289>
- Wang, Y., Zhu, L., Zhu, Z., Liu, M., & Zhao, X. (2024). Effects of different pH levels on the structural and functional properties of proteins of *Phaeodactylum tricornutum*. *Molecules*, 29(13), 1–18. <https://doi.org/10.3390/molecules29133139>
- Yang, J., Tan, J. N., & Gu, Y. (2012). Lactic acid as an invaluable bio-based solvent for organic reactions. *Green Chemistry*, 14(12), 3304–3317. <https://doi.org/10.1039/C2GC36083G>
- Yonata, D., Nurhidajah, N., Pranata, B., & Yusuf, M. (2021). Pengembangan penyedap rasa alami dari cangkang rajungan dengan metode foam-mat

drying. *Agrointek: Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 15(1), 371-381. <https://doi.org/10.21107/agrointek.v15i1.8799>
Zhang, D. (2021). Color feature extraction.

Fundamentals of Image Data Mining: Analysis, Features, Classification and Retrieval (pp. 59-99). Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-69251-3_4