

Optimasi Ekstraksi Karagenan dari *Gracilaria verrucosa* Menggunakan DES Choline Chloride–Glycerol dengan *Response Surface Methodology* Berdasarkan Rendemen dan Kadar Sulfat

Hazim Zhuhur Muzhaffar^{*1}

¹ Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Singaperbangsa Karawang, Indonesia
Email: hazimzhuhurmuzhaffar@gmail.com

Abstrak

Ekstraksi karagenan secara konvensional umumnya menggunakan larutan alkali, seperti kalium hidroksida (KOH), yang dapat menghasilkan limbah selama pengolahan. *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis choline chloride–glycerol dikaji sebagai alternatif pelarut untuk ekstraksi karagenan rumput laut. Penelitian ini bertujuan mengoptimalkan ekstraksi karagenan dari *Gracilaria verrucosa* menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan *Box–Behnken Design* (BBD). Variabel yang dikaji meliputi waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel, dengan rendemen dan kadar sulfat sebagai respons. Karakteristik gugus fungsi dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Berdasarkan 15 percobaan, rendemen berkisar antara 62,62–91,95% dan kadar sulfat antara 3,4–4,6%. Model rendemen tidak signifikan ($p = 0,192$), sedangkan model kadar sulfat signifikan ($p = 0,003$). Kondisi optimum prediksi diperoleh pada waktu ekstraksi 2,899 jam, rasio DES 0,10, dan ukuran partikel 29,697 mesh. Pengujian pada kondisi aktual, yaitu waktu ekstraksi 3 jam, rasio DES 0,10, dan ukuran partikel 20 mesh, menghasilkan rendemen 86,4% dan kadar sulfat 4,601%. Spektrum FTIR menunjukkan pita serapan sekitar 1034 dan 856 cm^{-1} , sedangkan pita sekitar 930 cm^{-1} tidak terlihat jelas. Jenis karagenan yang dihasilkan belum dapat ditentukan secara pasti berdasarkan FTIR sehingga diperlukan analisis lanjutan. Penelitian ini memberikan dasar awal untuk mengkaji penggunaan DES choline chloride–glycerol dalam ekstraksi karagenan. Kondisi optimum prediksi juga memerlukan validasi eksperimental.

Kata kunci: *Deep Eutectic Solvent*, *Gracilaria verrucosa*, kadar sulfat, karagenan, *Response Surface Methodology*, rendemen.

Abstract

Conventional carrageenan extraction typically uses alkaline solutions, such as potassium hydroxide (KOH), which can generate waste during processing. A choline chloride–glycerol-based Deep Eutectic Solvent (DES) was investigated as an alternative solvent for the extraction of seaweed polysaccharides. This study aimed to optimize carrageenan extraction from *Gracilaria verrucosa* using Response Surface Methodology (RSM) with a Box–Behnken Design (BBD). The variables studied included extraction time, DES-to-material ratio, and particle size, with yield and sulfate content as the responses. Functional group characteristics were analyzed using Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). Based on 15 experiments, the yield ranged from 62.62–91.95% and the sulfate content from 3.4–4.6%. The yield model was not significant ($p = 0.192$), whereas the sulfate content model was significant ($p = 0.003$). The predicted optimal conditions were obtained at an extraction time of 2.899 hours, a DES ratio of 0.10, and a particle size of 29.697 mesh. Testing under actual conditions—namely, an extraction time of 3 hours, a DES ratio of 0.10, and a particle size of 20 mesh—resulted in a yield of 86.4% and a sulfate content of 4.601%. The FTIR spectrum showed absorption bands around 1034 and 856 cm^{-1} , while the band around 930 cm^{-1} was not clearly visible. The type of carrageenan produced could not be definitively determined based on FTIR, so further analysis is required. This study provides an initial basis for examining the use of choline chloride–glycerol DES in carrageenan extraction. The predicted optimal conditions also require experimental validation.

Keywords: carrageenan, Deep Eutectic Solvent, *Gracilaria verrucosa*, Response Surface Methodology, sulfate content, yield.

1. PENDAHULUAN

Permintaan terhadap karagenan sebagai bahan tambahan berbasis rumput laut terus berkembang seiring dengan meningkatnya penggunaan hidrokoloid dalam berbagai produk industri. Karagenan merupakan polisakarida tersulfatasi yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pengental, penstabil, dan pembentuk gel dalam industri pangan (Udo et al., 2023). Selain itu, sifat fungsional karagenan juga mendukung pemanfaatannya dalam formulasi produk farmasi dan kosmetik (Shafie et al., 2022). Nilai pasar karagenan global diperkirakan mencapai US\$871,7 juta pada 2022 dan diproyeksikan meningkat menjadi US\$1,3 miliar pada 2030 (Zhang et al., 2024). Perkembangan tersebut menunjukkan pentingnya pengembangan teknologi pengolahan rumput laut yang mampu menghasilkan produk bernilai tambah.

Indonesia merupakan salah satu negara utama dalam produksi rumput laut dunia dan memiliki potensi sumber daya rumput laut yang besar untuk dikembangkan menjadi berbagai produk bernilai tambah. Kontribusi Indonesia terhadap produksi rumput laut budidaya dunia mengalami peningkatan yang signifikan, yaitu dari sekitar 7% pada tahun 2005 menjadi 37% pada tahun 2017. Perkembangan produksi tersebut juga terlihat di Sulawesi Selatan sebagai salah satu sentra utama budidaya rumput laut di Indonesia. Produksi rumput laut di wilayah tersebut meningkat dari sekitar 2,42 juta ton atau 26,4% dari produksi nasional pada tahun 2013 menjadi 3,66 juta ton atau 34,7% pada tahun 2017 (Larson et al., 2021). Rumput laut yang dibudidayakan di Indonesia mencakup kelompok *Rhodophyta* (rumput laut merah), *Chlorophyta* (rumput laut hijau), dan *Phaeophyta* (rumput laut cokelat), yang memiliki karakteristik serta potensi pemanfaatan berbeda (Basyuni et al., 2024).

Karagenan merupakan polisakarida linear tersulfatasi yang tersusun dari unit D-galaktosa dan 3,6-anhidro-D-galaktosa, yang diperoleh melalui proses ekstraksi dari dinding sel jenis tertentu rumput laut merah *Rhodophyceae* (Jiang et al., 2021). Genus *Gracilaria* sebagai salah satu kelompok rumput laut merah juga diketahui mengandung polisakarida tersulfatasi berbasis galaktan yang memiliki gugus sulfat dan 3,6-anhidrogalaktosa (Mulio et al., 2025).

Metode ekstraksi karagenan secara konvensional umumnya melibatkan perlakuan alkali menggunakan larutan seperti NaOH atau KOH yang dikombinasikan dengan pemanasan (Daet et al., 2025). Meskipun banyak digunakan, metode ini memiliki keterbatasan berupa waktu ekstraksi yang relatif lama dan timbulnya limbah selama proses pengolahan (Kumalaningrum et al., 2025). Penggunaan bahan kimia serta kondisi operasi dalam proses ekstraksi menjadi aspek yang perlu dipertimbangkan dalam pengembangan metode yang lebih berkelanjutan. Oleh karena itu, teknologi green extraction dikembangkan untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi sekaligus mempertimbangkan aspek lingkungan (Ummat et al., 2021). Salah satu pendekatan yang dapat dikaji adalah penggunaan Deep Eutectic Solvent (DES) sebagai alternatif pelarut ekstraksi.

Penelitian terdahulu telah mengkaji ekstraksi κ -karagenan dari *Kappaphycus alvarezii* menggunakan beberapa sistem *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis choline chloride, dengan urea, etilen glikol, dan gliserol sebagai komponen pendonor ikatan hidrogen, baik dengan maupun tanpa penambahan air. Penelitian tersebut membandingkan kinerja sistem pelarut serta karakteristik fisikokimia dan reologi karagenan yang dihasilkan (Das et al., 2016). Berbeda dengan penelitian tersebut, penelitian ini menggunakan *Gracilaria verrucosa* sebagai bahan baku dan DES berbasis choline chloride–glycerol. Variabel yang dioptimasi meliputi rasio DES terhadap bahan, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel, dengan rendemen dan kadar sulfat sebagai respons. Selain itu, karakteristik gugus fungsi produk dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR). Dengan demikian, penelitian ini memiliki perbedaan dalam hal spesies rumput laut, variabel proses yang dioptimasi, dan respons yang dievaluasi.

DES berpotensi digunakan sebagai alternatif pelarut karena dapat disintesis melalui pencampuran komponen penyusunnya, sedangkan karakteristik toksisitasnya bergantung pada jenis dan komposisi komponen yang digunakan (Sharma & Lee, 2024). Penggunaan DES berbasis choline chloride–glycerol dengan penambahan air sebesar 10% pada suhu 85 °C selama 1 jam menghasilkan rendemen κ -karagenan sebesar $60,25 \pm 1,10\%$, yang merupakan rendemen tertinggi di antara sistem pelarut yang dibandingkan dalam penelitian tersebut (Das et al., 2016). Hasil ini menunjukkan potensi DES berbasis choline chloride–glycerol untuk dikaji lebih lanjut sebagai pelarut ekstraksi karagenan.

Design of Experiments (DoE) merupakan pendekatan sistematis dalam perancangan percobaan yang mencakup berbagai rancangan, seperti desain faktorial dan Taguchi (Aristizábal-Alzate et al., 2025). Salah satu pendekatan optimasi dalam DoE adalah *Response Surface Methodology* (RSM), yang mencakup rancangan *Box–Behnken Design* (BBD). BBD memungkinkan evaluasi pengaruh variabel proses dan interaksinya terhadap respons dengan jumlah percobaan yang relatif efisien (Szpisják-Gulyás et al., 2023). Dalam penelitian ini, BBD digunakan untuk mengoptimasi proses ekstraksi karagenan dengan variabel rasio DES terhadap bahan, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel, serta respons berupa rendemen dan kadar sulfat.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan kondisi ekstraksi karagenan dari *Gracilaria verrucosa* menggunakan *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis *Choline Chloride–Glycerol* dengan pendekatan *Box–Behnken Design* (BBD) dalam *Response Surface Methodology* (RSM), berdasarkan respons rendemen dan kadar sulfat. Karakteristik gugus fungsi hasil ekstraksi dianalisis menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR).

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang bertujuan mengoptimalkan ekstraksi karagenan dari rumput laut *Gracilaria verrucosa* menggunakan *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis *choline chloride–glycerol*. Bahan baku rumput laut *Gracilaria verrucosa* diperoleh dari Koperasi Pertanian Bumi Agri Agar Makmur di Kecamatan Tirtajaya, Kabupaten Karawang. Penelitian dilaksanakan pada Juli–September 2026 di Gedung Laboratorium Bersama (GLB), Universitas Singaperbangsa Karawang.

2.1. Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan meliputi rumput laut *Gracilaria verrucosa*, *choline chloride*, gliserol, isopropil alkohol, dan air deionisasi. Rumput laut dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 20, 50, dan 80 mesh. Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi *hot plate*, gelas beker, gelas ukur, neraca analitik, centrifuge, oven, *furnace* (tanur), kertas saring Whatman No. 42, dan ayakan dengan ukuran 20, 50, dan 80 mesh.

2.2. Modeling Penelitian

Desain eksperimen yang diterapkan adalah *Box–Behnken Design* (BBD), bagian dari metode *Response Surface Methodology* (RSM), yang membuat pemodelan hubungan antara variabel bebas utama dan respons hasil ekstraksi. Perancangan dan optimasi proses ekstraksi dilakukan menggunakan pendekatan *Box–Behnken Design*, sebagaimana disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. *Variabel Penelitian BBD*

Kode Sampel	Faktor 1	Faktor 2	Faktor 3
	Waktu (jam)	Rasio/material	Ukuran Granula (mesh)
BBD-1	2	0,075	50
BBD-2	3	0,075	20
BBD-3	1	0,075	20
BBD-4	3	0,075	80
BBD-5	3	0,100	50
BBD-6	2	0,075	50
BBD-7	3	0,050	50
BBD-8	2	0,075	50
BBD-9	2	0,100	80
BBD-10	2	0,050	20
BBD-11	1	0,100	50
BBD-12	1	0,075	80
BBD-13	2	0,100	20
BBD-14	2	0,050	80
BBD-15	1	0,050	50

2.3. Prosedur Ekstraksi

DES dibuat dengan mencampurkan choline chloride sebagai akseptor ikatan hidrogen dan gliserol sebagai donor ikatan hidrogen pada rasio molar 1:2, kemudian dipanaskan pada suhu 80 °C menggunakan *hotplate magnetic stirrer* hingga homogen (Benítez-Correa et al., 2023). Ekstraksi dilakukan menggunakan 1 gram rumput laut kering pada variasi rasio bahan baku terhadap DES sebesar 0,050; 0,075; dan 0,100, pada suhu 80 °C, kecepatan pengadukan 300 rpm, serta waktu ekstraksi 1, 2, dan 3 jam (Das et al., 2016). Setelah ekstraksi, campuran disentrifugasi selama 15 menit pada kecepatan 4.000 rpm untuk memisahkan endapan. Endapan kemudian dicuci menggunakan isopropil alkohol, disaring dengan kertas saring bebas abu Whatman No. 42, dan dibilas menggunakan isopropil alkohol. Sampel selanjutnya dikeringkan dalam oven pada suhu 110 °C hingga mencapai berat konstan. Berat produk kering yang diperoleh kemudian digunakan untuk menghitung rendemen karagenan.

2.4. Penentuan Rendemen

Penentuan kadar karagenan yang diekstraksi dari rumput laut *Gracilaria* dilakukan dengan metode gravimetri, yaitu melalui proses pengendapan menggunakan isopropil alkohol, kemudian diikuti dengan penimbangan endapan karagenan dalam kondisi kering. Metode ini digunakan untuk menilai besarnya karagenan yang berhasil diperoleh, sehingga efisiensi proses ekstraksi dari bahan baku rumput laut kering dapat dievaluasi (Mendes et al., 2024).

Rumus untuk menentukan hasil (*yield*) ekstraksi karagenan:

$$\text{Rendemen} = \frac{W_e}{W_{ds}} \times 100 \quad (1)$$

Keterangan:

W_e = berat karagenan hasil ekstraksi (gr)

W_{ds} = berat rumput laut kering yang digunakan untuk ekstraksi (gr)

2.5. Penentuan Kadar Sulfat

Penentuan kadar sulfat dilakukan melalui hidrolisis sampel dan pengendapan ion sulfat sebagai barium sulfat (BaSO_4). Sebanyak 0,5 g sampel karagenan ditambahkan 50 mL HCl 1 N, kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 30 menit. Selanjutnya, ditambahkan 10 mL BaCl_2 0,25 M secara bertahap selama 5 menit. Campuran didinginkan selama 5 jam, kemudian endapan BaSO_4 disaring menggunakan kertas saring bebas abu Whatman No. 42 dan dicuci dengan akuades. Endapan beserta kertas saring dikalsinasi menggunakan tanur pada suhu 700 °C selama 1 jam. Setelah didinginkan, residu ditimbang untuk menentukan massa BaSO_4 . Nilai kadar sulfat dinyatakan dalam persen (%). Perhitungan dilakukan menggunakan faktor konversi 0,4116 yang menunjukkan fraksi massa ion sulfat dalam senyawa barium sulfat (Daet et al., 2025).

Persentase kadar sulfat dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Kadar Sulfat} = \frac{W_{\text{BaSO}_4} \times 0,4116}{W_s} \times 100 \quad (2)$$

Keterangan:

W_{BaSO_4} = berat endapan barium sulfat (g)

W_s = berat sampel karagenan yang dianalisis (g)

0,4116 = faktor konversi dari BaSO_4 menjadi SO_4^{2-}

2.6. Analisis FTIR

Sampel karagenan yang diperoleh dari setiap variasi kondisi ekstraksi dianalisis menggunakan spektrofotometer FTIR tipe Jasco FT/IR-4600 pada rentang bilangan gelombang 1800–600 cm^{-1} . Analisis ini dilakukan untuk mengenali gugus fungsi khas karagenan sekaligus mengamati kemungkinan perubahan struktur yang terjadi selama proses ekstraksi. Gugus fungsi utama yang menjadi perhatian meliputi ikatan sulfat (S=O), ikatan glikosidik (C-O-C), serta struktur 3,6-anhidroglaktosa.

(Vandanjon et al., 2023). Sebelum pengujian, sampel karagenan dikeringkan di dalam oven hingga mencapai berat konstan, dengan massa sampel sekitar ± 1 gram. Pengukuran FTIR dilakukan pada rentang bilangan gelombang 400–4000 cm^{-1} (Mendes et al., 2024).

2.7. Analisis Data

Analisis data dilakukan menggunakan Response Surface Methodology (RSM) dengan rancangan Box–Behnken Design (BBD). Hubungan antara variabel proses dan respons dianalisis menggunakan persamaan polinomial kuadratik orde kedua, yaitu

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_{i2} + \sum_{i < j}^k \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon \quad (3)$$

Dimana Y adalah respon, X_i dan X_j merupakan variabel independen, β_0 adalah konstanta, β_i koefisien linear, β_{ii} koefisien kuadrat, β_{ij} koefisien interaksi, dan ε adalah galat percobaan. Variabel proses yang digunakan meliputi rasio DES terhadap bahan baku, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel, sedangkan respons yang dianalisis adalah rendemen dan kadar sulfat. Evaluasi model dilakukan berdasarkan analisis varians (ANOVA), koefisien determinasi (R^2) dan adjusted R^2 . Model dinyatakan signifikan apabila nilai p kurang dari 0,05.

Optimasi kondisi ekstraksi dilakukan menggunakan desirability function dengan menetapkan sasaran maksimum (maximum) untuk respons rendemen dan kadar sulfat. Rasio DES terhadap bahan baku, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel ditetapkan dalam rentang percobaan masing-masing, sedangkan sasaran dan nilai kepentingan setiap respons ditentukan berdasarkan tujuan optimasi. Nilai desirability masing-masing respons kemudian digabungkan menjadi composite desirability untuk menentukan kondisi optimum. Kondisi optimum dipilih berdasarkan nilai composite desirability tertinggi yang mendekati 1.

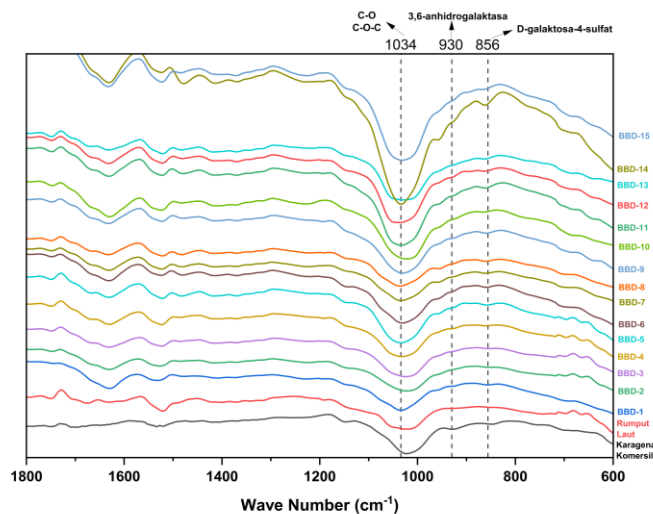
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Analisis Spektrum FTIR Karagenan

Hasil spektrum FTIR yang diperoleh menggambarkan karakteristik karagenan komersial, rumput laut *Gracilaria verrucosa*, dan karagenan hasil ekstraksi pada berbagai kondisi perlakuan. Analisis FTIR dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi utama yang terdapat pada struktur karagenan serta membandingkan karakteristik kimia hasil ekstraksi dengan spektrum khas karagenan. Hasil spektrum FTIR dari masing-masing sampel ditunjukkan pada Gambar 1.

Berdasarkan spektrum FTIR karagenan hasil ekstraksi pada BBD 1–15 menunjukkan adanya perbedaan pola dan intensitas serapan, terutama pada daerah bilangan gelombang 600–1200 cm^{-1} . Beberapa spektrum terlihat lebih tinggi atau mengalami peningkatan baseline dibandingkan sampel lainnya. Perbedaan tersebut dapat dipengaruhi oleh variasi konsentrasi sampel, kandungan air, serta perbedaan intensitas gugus fungsi yang menyerap radiasi inframerah. Pada karagenan yang merupakan polisakarida, keberadaan gugus hidroksil dan interaksi ikatan hidrogen dengan molekul air juga dapat memengaruhi vibrasi molekul sehingga menghasilkan perbedaan intensitas maupun bentuk spektrum. Daerah 600–1200 cm^{-1} merupakan fingerprint region yang sensitif terhadap perubahan struktur dan komposisi polisakarida (Vandanjon et al., 2023), sehingga perbedaan kondisi ekstraksi pada BBD 1–15 dapat menghasilkan variasi pola spektrum.

Pada daerah sekitar 1034 cm^{-1} terlihat pita serapan yang cukup jelas pada sampel. Pita pada daerah tersebut berkaitan dengan vibrasi gugus C–O dan C–O–C yang terdapat dalam struktur polisakarida. Keberadaan pita ini menunjukkan adanya karakteristik struktur polisakarida pada karagenan hasil ekstraksi. Sementara itu, pada daerah sekitar 930 cm^{-1} tidak terlihat pita serapan yang terbentuk secara jelas pada sampel hasil ekstraksi. Daerah sekitar 930 cm^{-1} umumnya dikaitkan dengan vibrasi 3,6-anhidroglaktosa, yang merupakan salah satu karakteristik struktur karagenan.



Gambar 1. Spektrum FTIR Karagenan

Selanjutnya, pada daerah sekitar 856 cm^{-1} terlihat adanya pita serapan pada spektrum sampel. Pita serapan pada daerah tersebut dapat dikaitkan dengan vibrasi D-galaktsa-4-sulfat, yang merupakan salah satu karakteristik gugus sulfat pada struktur karagenan. Dengan mempertimbangkan pola serapan pada daerah 1034 cm^{-1} yang berkaitan dengan vibrasi C–O dan C–O–C pada struktur polisakarida, tidak jelasnya pita serapan pada sekitar 930 cm^{-1} , serta keberadaan pita pada sekitar 856 cm^{-1} , spektrum FTIR sampel menunjukkan adanya gugus fungsi yang berkaitan dengan struktur karagenan. Namun, identifikasi jenis karagenan secara spesifik tidak dapat ditentukan hanya berdasarkan pita serapan tersebut dan memerlukan analisis lebih lanjut.

3.2. Hasil Rendemen dan Kadar Sulfat

Hasil pengujian rendemen dan kadar sulfat dari 15 percobaan berdasarkan rancangan Box–Behnken Design (BBD) disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengujian Rendemen dan Kadar Sulfat Karagenan

Nama Sampel	Rendemen	Kadar sulfat
BBD -1	91,95%	4,1%
BBD - 2	77,26%	4,6%
BBD - 3	62,62%	3,4%
BBD - 4	83,73%	3,6%
BBD - 5	87,77%	3,4%
BBD - 6	77,21%	4,0%
BBD - 7	87,58%	3,4%
BBD - 8	79,48%	3,8%
BBD - 9	87,15%	3,9%
BBD - 10	73,27%	3,4%
BBD - 11	81,06%	3,4%
BBD - 12	77,19%	4,5%
BBD - 13	75,81%	4,6%
BBD - 14	83,06%	4,4%
BBD - 15	74,90%	3,8%

Berdasarkan Tabel 2, hasil pengujian pada 15 *run Box-Behnken Design* (BBD) menunjukkan adanya variasi nilai rendemen dan kadar sulfat pada setiap perlakuan. Nilai rendemen yang diperoleh berkisar antara 62,62–91,95%, sedangkan kadar sulfat berkisar antara 3,4–4,6%. Variasi nilai tersebut menunjukkan bahwa setiap kombinasi kondisi ekstraksi menghasilkan jumlah karagenan dan kadar sulfat yang berbeda.

Nilai rendemen tertinggi diperoleh pada BBD-1 sebesar 91,95%, sedangkan nilai terendah diperoleh pada BBD-3 sebesar 62,62%. Sementara itu, kadar sulfat tertinggi diperoleh pada BBD-2 dan BBD-13 sebesar 4,6%, sedangkan kadar sulfat terendah sebesar 3,4% diperoleh pada BBD-3, BBD-5, BBD-7, BBD-10, dan BBD-11. Perbedaan nilai tersebut menunjukkan adanya variasi hasil pada setiap kondisi ekstraksi yang digunakan.

Berdasarkan hasil pengujian tersebut, belum dapat ditentukan secara langsung pengaruh rasio DES terhadap bahan baku, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel terhadap rendemen maupun kadar sulfat hanya berdasarkan perbandingan nilai antar-*run*. Hal ini disebabkan setiap *run* merupakan kombinasi dari beberapa kondisi proses yang berbeda.

3.3. Analisis Statistik dan Pengaruh Variabel Proses

Analisis statistik menggunakan pendekatan *Response Surface Methodology* (RSM) dengan *Box-Behnken Design* dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh rasio DES terhadap bahan baku, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel terhadap rendemen dan kadar sulfat karagenan. Ringkasan statistik model RSM untuk respon rendemen dan kadar sulfat karagenan ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Ringkasan Statistik Model RSM

Parameter	Nilai Rendemen	Nilai Kadar Sulfat
S	0,0542064	0,130365
R ²	80,25%	96,93%
R ² (Adjusted)	44,69%	91,40%

Berdasarkan Tabel 3. Ringkasan Statistik Model RSM, model RSM yang diperoleh secara umum sudah mampu menggambarkan kecenderungan data pada sebagian besar respon yang diamati. Nilai R² untuk rendemen dan kadar sulfat masing-masing sebesar 80,25% dan 96,93%. Angka ini menunjukkan bahwa model cukup baik dalam menjelaskan variasi data, terutama pada kadar sulfat yang memiliki nilai koefisien determinasi tinggi.

Nilai S (*standard error of regression*) menunjukkan simpangan baku dari selisih antara nilai aktual dan nilai prediksi model. Semakin kecil nilai S, semakin baik model dalam memprediksi data aktual. Pada model Rendemen, nilai S sebesar 0,0542064 relatif kecil, menunjukkan sebaran data terhadap garis model tidak terlalu besar. Sementara pada model Kadar Sulfat, nilai S yang diperoleh sebesar 0,130365 terlihat lebih besar dibandingkan model Rendemen. Namun, perlu digarisbawahi bahwa nilai S antara kedua model ini tidak dapat dibandingkan secara langsung, karena satuan dan rentang nilai kedua respon (rendemen dan kadar sulfat) berbeda, sehingga besar-kecilnya nilai S hanya relevan untuk mengevaluasi ketepatan model pada masing-masing respon itu sendiri, bukan untuk membandingkan tingkat akurasi antara kedua model.

Nilai koefisien determinasi R² model rendemen sebesar 80,25%, sedangkan nilai R² (Adjusted) sebesar 44,69%. Perbedaan kedua nilai tersebut menunjukkan bahwa kemampuan model dalam menjelaskan variasi rendemen menurun setelah mempertimbangkan jumlah parameter yang digunakan dalam model. Selain itu, hasil ANOVA menunjukkan bahwa model rendemen tidak signifikan secara statistik, dengan nilai ($p = 0,192$) ($> 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa model belum mampu menjelaskan hubungan antara variabel proses dan rendemen secara signifikan. Oleh karena itu, meskipun nilai R² relatif tinggi, hasil pemodelan rendemen perlu diinterpretasikan secara hati-hati dan belum dapat dijadikan dasar yang kuat untuk memprediksi rendemen.

Berdasarkan hasil tersebut, model kadar sulfat memiliki kemampuan penjelasan yang lebih konsisten antara nilai R² dan R² (Adjusted), sedangkan model rendemen menunjukkan perbedaan yang

lebih besar antara kedua parameter tersebut. Evaluasi lebih lanjut mengenai signifikansi dan kelayakan masing-masing model dilakukan melalui analisis ANOVA, nilai *p-value*, untuk mengetahui pengaruh variabel proses terhadap respon yang diamati.

Tabel 4. Analisis ANOVA terhadap Respon Rendemen dan Kadar Sulfat

Sumber Variasi	P-value rendemen	P-value kadar sulfat
Model	0,192	0,003
	Linear	
waktu	0,044	0,528
rasio	0,249	0,082
ukuran	0,071	0,412
	Square	
waktu*waktu	0,342	0,017
rasio*rasio	0,296	0,071
ukuran*ukuran	0,175	0,012
	2-Way Interaction	
waktu*rasio	0,604	0,029
waktu*ukuran	0,547	0,000
rasio*ukuran	0,604	0,001

Analisis ANOVA dalam penelitian ini menggunakan taraf signifikansi sebesar 5% ($\alpha = 0,05$). Taraf signifikansi tersebut digunakan sebagai batas pengambilan keputusan dalam pengujian hipotesis. Apabila nilai *p-value* $< 0,05$, maka pengaruh yang diuji dinyatakan signifikan secara statistik, sehingga H_0 ditolak dan H_a diterima. Sebaliknya, apabila nilai *p-value* $> 0,05$, maka pengaruh yang diuji dinyatakan tidak signifikan secara statistik.

Berdasarkan hasil ANOVA yang ditunjukkan pada Tabel 4, model rendemen menunjukkan nilai *p-value* sebesar 0,192 ($> 0,05$), sehingga model secara keseluruhan tidak signifikan pada taraf signifikansi 5%. Hal ini menunjukkan bahwa model yang melibatkan rasio DES terhadap bahan baku, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel belum mampu menjelaskan variasi rendemen secara signifikan. Secara parsial, waktu ekstraksi menunjukkan pengaruh linear yang signifikan terhadap rendemen dengan nilai *p-value* sebesar 0,044 ($< 0,05$), sedangkan rasio DES ($p = 0,249$) dan ukuran partikel ($p = 0,071$) tidak menunjukkan pengaruh linear yang signifikan. Secara teoritis, waktu ekstraksi yang lebih lama dapat memberikan kesempatan lebih besar bagi karagenan untuk terlarut dalam pelarut, meskipun peningkatannya dapat melambat ketika sistem mendekati kesetimbangan. Sementara itu, ukuran partikel yang lebih halus dapat meningkatkan luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut sehingga mendukung proses perpindahan massa. Namun, pada penelitian ini, pengaruh linear ukuran partikel terhadap rendemen belum terbukti signifikan secara statistik. Demikian pula, rasio DES tidak menunjukkan pengaruh linear yang signifikan dalam rentang yang digunakan. Oleh karena itu, meskipun waktu ekstraksi secara individual menunjukkan pengaruh linear yang signifikan, model rendemen secara keseluruhan tetap tidak signifikan.

Pada respon kadar sulfat, hasil ANOVA menunjukkan bahwa model secara keseluruhan signifikan dengan *p-value* sebesar 0,003 ($< 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa variabel rasio DES terhadap bahan baku, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel secara bersama-sama memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar sulfat karagenan. Secara parsial, variabel linear waktu ekstraksi ($p = 0,528$), rasio DES ($p = 0,082$), dan ukuran partikel ($p = 0,412$) tidak menunjukkan pengaruh signifikan. Efek kuadratik waktu ekstraksi ($p = 0,017$) dan ukuran partikel ($p = 0,012$) menunjukkan pengaruh signifikan, sedangkan efek kuadratik rasio DES ($p = 0,071$) tidak signifikan. Interaksi antara waktu ekstraksi dan rasio DES ($p = 0,029$), waktu ekstraksi dan ukuran partikel ($p = 0,000$), serta rasio DES dan ukuran partikel ($p = 0,001$) menunjukkan pengaruh yang signifikan.

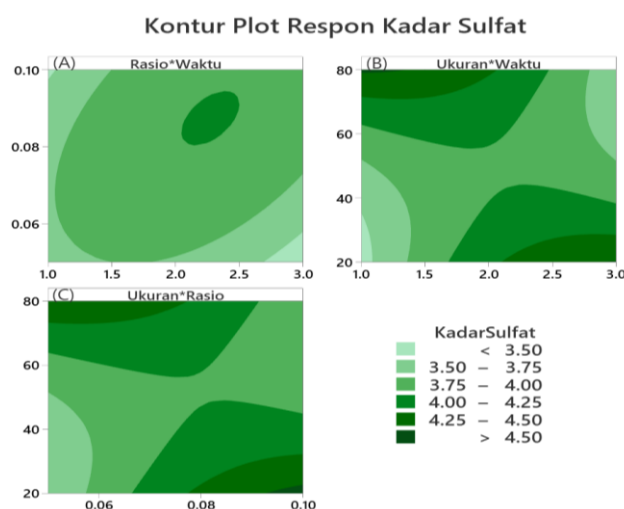
Secara keseluruhan, pengaruh variabel proses terhadap respon rendemen dan kadar sulfat menunjukkan pola yang berbeda. Pada respon rendemen, model secara keseluruhan tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan, meskipun waktu ekstraksi berpengaruh signifikan secara parsial. Sementara

itu, pada respon kadar sulfat, model menunjukkan pengaruh yang signifikan dengan adanya pengaruh kuadratik pada waktu ekstraksi dan ukuran partikel serta interaksi antara variabel proses. Dengan demikian, perubahan kadar sulfat lebih banyak dipengaruhi oleh hubungan kuadratik dan interaksi antarvariabel dibandingkan pengaruh linear masing-masing variabel.

3.4. Variabel Bebas Terhadap Variabel Respon

Berdasarkan hasil ANOVA, interaksi dua arah antarvariabel bebas tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap respon rendemen. Namun, pada respon kadar sulfat, interaksi dua arah antarvariabel menunjukkan pengaruh yang signifikan. Analisis contour plot digunakan untuk menggambarkan kecenderungan perubahan masing-masing respon akibat kombinasi variabel proses.

Visualisasi pengaruh interaksi antar variabel terhadap rendemen dan kadar sulfat karagenan ditunjukkan melalui kontur plot pada Gambar 2 dan Gambar 3, yang menggambarkan perubahan nilai rendemen dan kadar sulfat pada berbagai kombinasi kondisi proses.

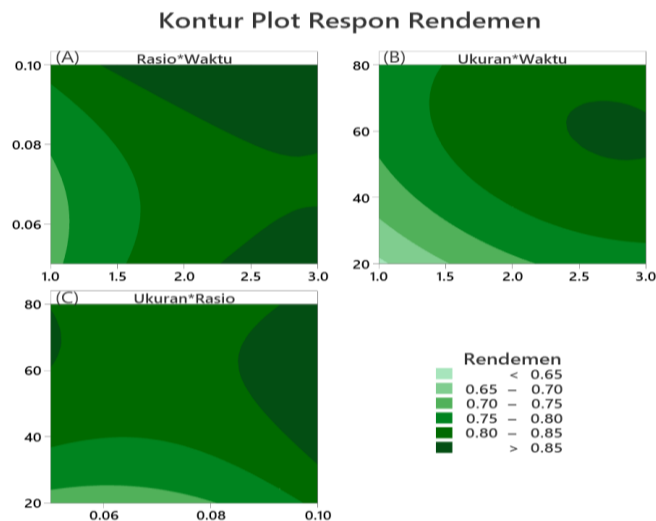


Gambar 2. Kontur Plot Respon Rendemen. (A) rasio*waktu; (B) ukuran*waktu; (C) ukuran*rasio.

Kontur plot pada Gambar 2, menunjukkan pengaruh interaksi antarvariabel proses terhadap rendemen karagenan. Perbedaan warna pada kontur menunjukkan tingkat rendemen, dengan warna yang semakin gelap menunjukkan nilai rendemen yang semakin tinggi. Pada Gambar 2(A), rendemen cenderung meningkat pada rasio pelarut yang lebih tinggi, terutama pada rentang waktu ekstraksi 2–3 jam. Gambar 2(B) menunjukkan bahwa rendemen yang lebih tinggi cenderung diperoleh pada waktu ekstraksi yang lebih lama dan ukuran partikel 50–80 mesh. Sementara itu, Gambar 2(C) memperlihatkan kecenderungan peningkatan rendemen pada kombinasi rasio pelarut 0,08–0,10 dan ukuran partikel yang lebih halus. Secara keseluruhan, kontur plot menunjukkan kecenderungan rendemen lebih tinggi pada rasio pelarut dan waktu ekstraksi yang lebih besar serta ukuran partikel yang lebih halus. Namun, pola ini menggambarkan prediksi model dan perlu diinterpretasikan dengan mempertimbangkan hasil ANOVA.

Kontur plot pada Gambar 3 menunjukkan pengaruh interaksi antarvariabel proses terhadap kadar sulfat karagenan yang dihasilkan. Perbedaan warna pada kontur menunjukkan perbedaan nilai kadar sulfat, dengan warna yang semakin gelap menunjukkan kadar sulfat yang semakin tinggi. Pada Gambar 3(A), kadar sulfat tertinggi (>4,50%) diprediksi pada waktu ekstraksi sekitar 2,0–2,5 jam dan rasio pelarut 0,08–0,09. Gambar 3(B) memperlihatkan daerah berkadar sulfat tinggi pada kombinasi ukuran partikel sekitar 80 mesh dengan waktu ekstraksi sekitar 1 jam, serta ukuran partikel sekitar 20 mesh dengan waktu ekstraksi sekitar 3 jam. Sementara itu, Gambar 3(C) menunjukkan kadar sulfat tinggi pada kombinasi ukuran partikel sekitar 80 mesh dengan rasio pelarut 0,05 dan ukuran partikel sekitar 20 mesh dengan rasio pelarut 0,10. Secara keseluruhan, pola kontur menunjukkan bahwa kadar sulfat

bergantung pada kombinasi variabel proses, sehingga peningkatan setiap variabel tidak selalu menghasilkan kenaikan kadar sulfat secara konsisten.



Gambar 3. Kontur Plot Respon Kadar Sulfat. (A) rasio*waktu; (B) ukuran*waktu; (C) ukuran*rasio.

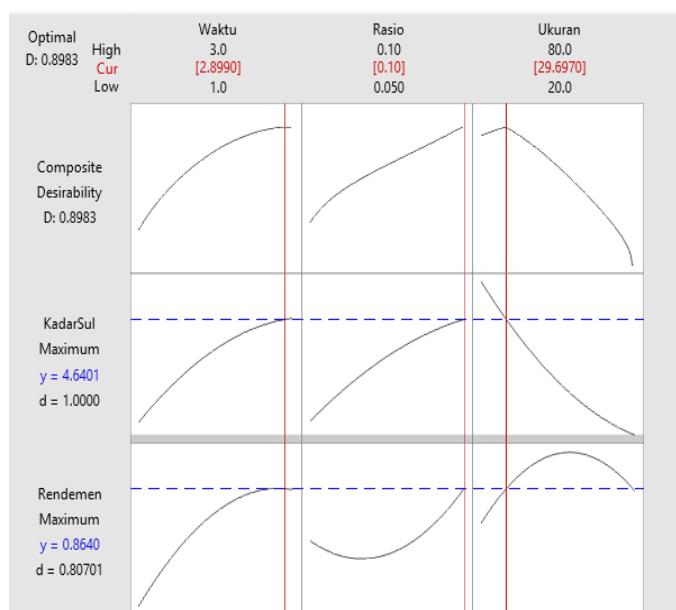
3.5. Penentuan Kondisi Optimum Berdasarkan Respon Optimizer

Hasil analisis optimasi yang diperoleh dari pemodelan Response Surface Methodology (RSM) ditampilkan pada Gambar 4. optimasi dilakukan untuk memperoleh kombinasi kondisi ekstraksi yang sesuai dengan sasaran respons rendemen dan kadar sulfat. Proses optimasi mempertimbangkan tiga variabel bebas, yaitu rasio DES, waktu ekstraksi, dan ukuran partikel, sehingga diperoleh kombinasi kondisi operasi yang paling sesuai berdasarkan model yang dikembangkan. Penentuan kondisi optimum dilakukan menggunakan fitur *Response Optimizer* dengan mempertimbangkan sasaran optimasi pada masing-masing respons.

Berdasarkan Gambar 4, hasil optimasi menggunakan pendekatan *desirability function* pada metode permukaan respon (*Response Surface Methodology*) menunjukkan kondisi proses optimum diperoleh pada Waktu selama 2,899 jam, Rasio sebesar 0,10 dan Ukuran sebesar 29,697 mesh. Nilai Waktu optimum yang mendekati batas atas rentang 3 jam mengindikasikan bahwa proses ekstraksi/reaksi cenderung membutuhkan waktu kontak yang relatif lama untuk mencapai hasil terbaik. Rasio optimum yang berada tepat pada level tertinggi 0,10 menunjukkan bahwa *desirability* terus meningkat seiring naiknya rasio dalam rentang yang diuji, sehingga perlu dipertimbangkan penambahan level rasio yang lebih tinggi pada penelitian lanjutan untuk memastikan apakah titik optimum sesungguhnya berada di luar rentang percobaan atau memang berada pada batas atas tersebut. Ukuran optimum sebesar 29,697 mesh berada di antara level 20 dan 50 mesh, sehingga menunjukkan bahwa kondisi optimum prediksi berada di antara kedua level ukuran partikel yang diuji.

Kondisi eksperimen yang digunakan untuk mendekati kondisi optimum tersebut adalah waktu ekstraksi 3 jam, rasio DES 0,10, dan ukuran partikel 20 mesh. Kondisi ini menghasilkan rendemen sebesar 86,4% dan kadar sulfat sebesar 4,601%. Nilai *desirability* untuk rendemen sebesar 0,80701 menunjukkan tingkat pemenuhan sasaran maksimisasi rendemen berdasarkan model, sedangkan nilai *desirability* kadar sulfat sebesar 1,0000 menunjukkan bahwa sasaran maksimisasi respons tersebut terpenuhi menurut model.

Meskipun kondisi optimum telah diprediksi melalui *Response Optimizer*, hasil optimasi perlu ditafsirkan dengan mempertimbangkan signifikansi model yang dikembangkan. Model rendemen belum menunjukkan signifikansi statistik pada taraf 5% ($p = 0,192$), sehingga prediksi optimum untuk respons rendemen belum dapat dianggap sebagai kondisi optimum yang tervalidasi secara statistik. Oleh karena itu, hasil optimasi ini dapat menjadi dasar awal untuk penelitian lanjutan dalam mengkaji kondisi ekstraksi karagenan menggunakan DES.



Gambar 4. Kondisi Optimum Hasil Respon Optimizer

4. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil analisis FTIR, sampel hasil ekstraksi menunjukkan pita serapan pada sekitar 1034 cm^{-1} yang berkaitan dengan vibrasi gugus C–O dan C–O–C pada struktur polisakarida serta pita sekitar 856 cm^{-1} yang berkaitan dengan D-galaktosa-4-sulfat. Pita serapan sekitar 930 cm^{-1} yang umumnya dikaitkan dengan struktur 3,6-anhidro-D-galaktosa tidak terlihat secara jelas. Secara keseluruhan, pola serapan tersebut menunjukkan keberadaan gugus fungsi yang berkaitan dengan struktur karagenan. Namun, hasil FTIR yang diperoleh belum cukup untuk memastikan identitas dan jenis karagenan secara spesifik sehingga diperlukan analisis lanjutan untuk mengonfirmasi karakteristik produk hasil ekstraksi.

Pada 15 percobaan *Box–Behnken Design*, rendemen yang diperoleh berada pada rentang 62,62–91,95%, sedangkan kadar sulfat berkisar antara 3,4–4,6%. Rendemen tertinggi diperoleh pada BBD-1 sebesar 91,95%, sedangkan kadar sulfat tertinggi sebesar 4,6% diperoleh pada BBD-2 dan BBD-13. Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa model rendemen belum signifikan secara keseluruhan, sedangkan model kadar sulfat signifikan. Dengan demikian, model kadar sulfat memiliki dukungan statistik yang lebih kuat dalam menjelaskan hubungan antara variabel proses dan respons dibandingkan model rendemen.

Optimasi menggunakan *Response Surface Methodology* dengan rancangan *Box–Behnken Design* menghasilkan kondisi optimum prediksi pada waktu ekstraksi 2,899 jam, rasio DES 0,10, dan ukuran partikel 29,697 mesh. Pengujian pada kondisi pendekatan optimum, yaitu waktu ekstraksi 3 jam, rasio DES 0,10, dan ukuran partikel 20 mesh, menghasilkan rendemen sebesar 86,4% dan kadar sulfat sebesar 4,601%. Nilai *desirability* untuk rendemen dan kadar sulfat masing-masing sebesar 0,80701 dan 1,0000. Meskipun kondisi tersebut menghasilkan nilai respons yang diharapkan, model rendemen yang belum signifikan menyebabkan hasil optimasi masih memerlukan pengujian lanjutan untuk memvalidasi prediksi, khususnya terhadap rendemen.

DAFTAR PUSTAKA

- Aristizábal-Alzate, C. E., Castillejos-López, E., Dongil, A. B., & Romero-Sáez, M. (2025). Integration of Design of Experiments, Analysis of Variance and Response Surface Methodology in Assessing Heterogeneous Catalysts Processes: A Minireview. In *ChemistryOpen* (Vol. 14, Number 1). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/open.202400148>

- Benítez-Correa, E., Bastías-Montes, J. M., Acuña-Nelson, S., & Muñoz-Fariña, O. (2023). Effect of choline chloride-based deep eutectic solvents on polyphenols extraction from cocoa (*Theobroma cacao* L.) bean shells and antioxidant activity of extracts. *Current Research in Food Science*, 7. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100614>
- Daet, I. P., Chen, T. Y., Nuñal, S. N., Peralta, J. P., Simora, R. M. C., Lee, M. C., Chang, J. S., & Traifalgar, R. F. M. (2025). Optimized Alkaline Extraction and Functional Characterization of Carrageenan from *Eucheuma perplexum* Using Response Surface Methodology. *Foods*, 14(20), 1–15. <https://doi.org/10.3390/foods14203496>
- Das, A. K., Sharma, M., Mondal, D., & Prasad, K. (2016). Deep eutectic solvents as efficient solvent system for the extraction of κ -carrageenan from *Kappaphycus alvarezii*. *Carbohydrate Polymers*, 136, 930–935. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.114>
- Jiang, J. L., Zhang, W. Z., Ni, W. X., & Shao, J. W. (2021). Insight on structure-property relationships of carrageenan from marine red algal: A review. In *Carbohydrate Polymers* (Vol. 257). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117642>
- Kumalaningrum, A. N., Poeloengasih, C. D., Azhary, M. F., Sholihah, N., Syafitri, T. A., Sabillah, H., Nusantara, B. G., & Christyandari, D. A. (2025). Optimization of Carrageenan Extraction from *Kappaphycus alvarezii* using Ultrasonic-assisted Cellulase Extraction (UACE). *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*, 28(2), 187–209. <https://doi.org/10.17844/jphpi.v28i2.61454>
- Larson, S., Stoeckl, N., Fachry, M. E., Dalvi Mustafa, M., Lapong, I., Purnomo, A. H., Rimmer, M. A., & Paul, N. A. (2021). Women's well-being and household benefits from seaweed farming in Indonesia. *Aquaculture*, 530. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735711>
- 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). <https://doi.org/10.3390/md22110491>
- Mulio, A. T., Chiu, C. S., Chan, Y. J., Lu, W. C., & Li, P. H. (2025). New Perspectives on Polysaccharides From *Gracilaria* and *Gracilariopsis* (Rhodophyta) and Their Potential Applications in Future Industries. In *Food Frontiers* (Vol. 6, Number 5, pp. 2129–2143). John Wiley and Sons Inc. <https://doi.org/10.1002/fft2.70051>
- Shafie, M. H., Kamal, M. L., Zulkiflee, F. F., Hasan, S., Uyup, N. H., Abdullah, S., Mohamed Hussin, N. A., Tan, Y. C., & Zafarina, Z. (2022). Application of Carrageenan extract from red seaweed (Rhodophyta) in cosmetic products: A review. *Journal of the Indian Chemical Society*, 99(9), 100613. <https://doi.org/10.1016/J.JICS.2022.100613>
- Sharma, A., & Lee, B. S. (2024). Toxicity test profile for deep eutectic solvents: A detailed review and future prospects. *Chemosphere*, 350, 141097. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2023.141097>
- Szpisják-Gulyás, N., Al-Tayawi, A. N., Horváth, Z. H., László, Z., Kertész, S., & Hodúr, C. (2023). Methods for experimental design, central composite design and the Box–Behnken design, to optimise operational parameters: A review. *Acta Alimentaria*, 52(4), 521–537. <https://doi.org/10.1556/066.2023.00235>
- Udo, T., Mummaleti, G., Mohan, A., Singh, R. K., & Kong, F. (2023). Current and emerging applications of carrageenan in the food industry. *Food Research International*, 173, 113369. <https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2023.113369>
- Ummat, V., Sivagnanam, S. P., Rajauria, G., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2021). Advances in pre-treatment techniques and green extraction technologies for bioactives from seaweeds. *Trends in Food Science and Technology*, 110(December 2020), 90–106. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.018>

- Vandanjon, L., Burlot, A. S., Zamanileha, E. F., Douzenel, P., Ravelonandro, P. H., Bourgougnon, N., & Bedoux, G. (2023). The Use of FTIR Spectroscopy as a Tool for the Seasonal Variation Analysis and for the Quality Control of Polysaccharides from Seaweeds. *Marine Drugs*, 21(9). <https://doi.org/10.3390/md21090482>
- Zhang, J., Waldron, S., Langford, Z., Julianto, B., & Komarek, A. M. (2024). China's growing influence in the global carrageenan industry and implications for Indonesia. *Journal of Applied Phycology*, 36(2), 639–660. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03004-0>

Halaman ini dikosongkan