

Optimasi Ekstraksi Karagenan dari *Gracilaria verrucosa* Menggunakan *Deep Eutectic Solvent* Berbasis *Response Surface Methodology*

Optimization of Carrageenan Extraction from Gracilaria verrucosa Using Deep Eutectic Solvent Based on Response Surface Methodology

Izran Febrian^{1*}, Kaori Amelia Putri¹, Naomi Jeris Simanjuntak¹

¹Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Singaperbangsa Karawang

*Email Koresponden: izranfebrn@gmail.com

Received : 14 Juli 2026 | Accepted : 16 Oktober 2026 | Published : 22 Oktober 2026

Kata Kunci

Deep Eutectic Solvent, ekstraksi karagenan, *Gracilaria verrucosa*, optimasi proses, Response Surface Methodology.

ABSTRAK

Karagenan dan agar merupakan polisakarida yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan pembentuk gel, pengental, dan penstabil. Penelitian ini bertujuan mengoptimalkan ekstraksi polisakarida dari *Gracilaria verrucosa* menggunakan *Deep Eutectic Solvent* (DES) berbasis *choline chloride-glycerol* melalui *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan *Box-Behnken Design* (BBD). Variabel yang dikaji meliputi waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel, dengan respons berupa massa ekstrak kasar, kadar abu, dan indeks kemurnian. Karakterisasi produk dilakukan menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ukuran partikel berpengaruh signifikan terhadap massa ekstrak kasar, sedangkan rasio DES terhadap bahan dan ukuran partikel berpengaruh terhadap kadar abu. Spektrum FTIR menunjukkan keberadaan gugus ester sulfat dan pita serapan yang berkaitan dengan struktur polisakarida sulfat. Berdasarkan optimasi numerik RSM, kondisi optimum yang diprediksi diperoleh pada waktu ekstraksi 3 jam, rasio DES terhadap bahan 0,10, dan ukuran partikel 80 mesh, dengan prediksi massa ekstrak sebesar 4,5067 g, kadar abu 0,6754%, dan indeks kemurnian 220%. Hasil tersebut merupakan nilai prediksi berdasarkan model RSM dan belum dikonfirmasi melalui validasi eksperimental. Penelitian ini menunjukkan bahwa DES berbasis *choline chloride-glycerol* berpotensi digunakan sebagai pelarut alternatif dalam ekstraksi polisakarida dari *Gracilaria verrucosa*.

Copyright (c) 2026
Izran Febrian, Kaori
Amelia Putri, Naomi
Jeris Simanjuntak



This work is licensed
under a [Creative
Commons Attribution-
ShareAlike 4.0
International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/).

Keywords

Deep Eutectic Solvent, carrageenan extraction, *Gracilaria verrucosa*, process optimization, Response Surface Methodology.

ABSTRACT

Carrageenan and agar are polysaccharides widely used as gelling agents, thickeners, and stabilizers in the food industry. This study aims to optimize the extraction of polysaccharides from *Gracilaria verrucosa* using a choline chloride–glycerol-based Deep Eutectic Solvent (DES) via Response Surface Methodology (RSM) with a Box–Behnken Design (BBD). The variables studied included extraction time (1–3 h), DES-to-material ratio (0.050–0.100 g/mL), and particle size (20–80 mesh), with crude extract mass, ash content, and purity index as responses. Product characterization was performed using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy. The results showed that particle size significantly affected the crude extract mass ($p = 0.009$), whereas the DES-to-material ratio ($p = 0.002$) and particle size ($p = 0.011$) significantly influenced the ash content. FTIR spectra confirmed the presence of sulfate ester groups and absorption bands associated with the sulfated polysaccharide structure. Based on RSM numerical optimization, the predicted optimal conditions were achieved at an extraction time of 3 h, a DES-to-material ratio of 0.100 g/mL, and a particle size of 80 mesh, with a composite desirability of 0.9849. Under these conditions, the model predicted a crude extract mass of 4.5067 g, ash content of 0.6754%, and a purity index of 220%. These results represent predicted values based on the RSM mathematical model and have not been confirmed through experimental validation. This study demonstrates that choline chloride–glycerol-based DES has potential as an alternative green solvent for extracting polysaccharides from *Gracilaria verrucosa*.

1. PENDAHULUAN

Karagenan merupakan polisakarida sulfat yang diperoleh dari rumput laut merah (*Rhodophyta*) dan banyak dimanfaatkan sebagai pembentuk gel, pengental, penstabil, serta pengemulsi dalam industri pangan, farmasi, dan kosmetik. Meningkatnya kebutuhan terhadap hidrokoloid alami mendorong permintaan karagenan sebagai bahan baku industri yang memiliki nilai ekonomi tinggi (Zhang, Waldron, Langford, Julianto, & Martin, 2024) Indonesia merupakan salah satu produsen rumput laut terbesar di dunia dengan kontribusi sekitar 27,5% dari produksi global (Ferdouse, Holdt, Smith, Murua, & Yang, 2018). Sekitar 65% dari total hasil budidaya rumput laut di Indonesia diekspor dalam bentuk mentah atau *raw dried seaweed* tanpa melalui proses pengolahan lebih lanjut (Zhang et al., 2024). Salah satu spesies yang banyak dibudidayakan adalah *Gracilaria verrucosa*, yang berpotensi sebagai sumber polisakarida untuk produksi karagenan (Tabrani, Angkasa, & Deviarni, 2024). Salah satu sentra budidaya *Gracilaria verrucosa* terdapat di Kabupaten Karawang, Jawa Barat, yang memiliki potensi pengembangan industri berbasis rumput laut. Pemanfaatan rumput laut menjadi produk karagenan merupakan salah satu upaya untuk meningkatkan nilai tambah hasil budidaya.

Ekstraksi karagenan secara konvensional umumnya menggunakan larutan alkali seperti natrium hidroksida (NaOH) atau kalium hidroksida (KOH). Meskipun metode ini efektif

meningkatkan rendemen dan sifat gel karagenan, penggunaan alkali menghasilkan limbah dengan pH tinggi yang memerlukan pengolahan sebelum dibuang ke lingkungan serta meningkatkan konsumsi bahan kimia selama proses ekstraksi (Djurumudi et al., 2022; Ferdiansyah, Abdassah, Zainuddin, Rachmaniar, & Chaerunisaa, 2023). Oleh karena itu, pengembangan metode ekstraksi yang lebih ramah lingkungan menjadi salah satu fokus penelitian dalam pengolahan rumput laut.

Salah satu alternatif yang berkembang adalah penggunaan Deep Eutectic Solvent (DES) sebagai *green solvent*. DES merupakan campuran hydrogen bond acceptor dan hydrogen bond donor yang membentuk sistem pelarut melalui interaksi ikatan hidrogen sehingga memiliki sifat fisikokimia yang mendukung proses ekstraksi biomassa (Dai, van Spronsen, Witkamp, Verpoorte, & Choi, 2013). Pada penelitian ini digunakan kombinasi *choline chloride-glycerol* karena bersifat relatif tidak toksik, biodegradable, mudah disiapkan serta berpotensi meningkatkan efisiensi ekstraksi polisakarida dari biomassa rumput laut. Kombinasi tersebut berpotensi menjadi alternatif pengganti pelarut alkali dalam proses ekstraksi karagenan (Das, Sharma, Mondal, & Prasad, 2016).

Keberhasilan ekstraksi karagenan menggunakan DES dipengaruhi oleh berbagai parameter proses, seperti waktu ekstraksi, rasio pelarut terhadap bahan, dan ukuran partikel. Ketiga variabel tersebut memengaruhi perpindahan massa antara bahan dan pelarut sehingga diperlukan optimasi untuk memperoleh kondisi ekstraksi yang optimal (Das et al., 2016). Metode Permukaan Respons (RSM) merupakan salah satu metode optimasi yang mampu mengevaluasi pengaruh beberapa variabel secara simultan serta menentukan kondisi optimum melalui model matematis dengan jumlah percobaan yang lebih efisien (Szpisják-Gulyás, Al-Tayawi, et al., 2023).

Penggunaan *Deep Eutectic Solvent* (DES) telah dikembangkan sebagai alternatif pelarut ramah lingkungan untuk ekstraksi polisakarida dari rumput laut. DES berbasis *choline chloride*, termasuk kombinasi dengan *glycerol*, telah digunakan untuk mengekstraksi κ -karagenan dari *Kappaphycus alvarezii* dengan karakteristik produk yang sebanding dengan metode konvensional (Das et al., 2016). Pendekatan *Response Surface Methodology* (RSM) juga telah digunakan untuk mengoptimalkan ekstraksi karagenan dari *Eucheuma spinosum* menggunakan *ohmic heating* dengan variasi suhu, waktu ekstraksi, konsentrasi KOH, dan rasio larutan terhadap rumput laut (Hasizah, et al., 2021). Pada genus *Gracilaria*, RSM-BBD telah diterapkan untuk mengoptimalkan ekstraksi polisakarida dari *Gracilaria lemaneiformis* menggunakan metode *accelerated solvent extraction* (Wang et al, 2023). Penelitian terbaru juga menerapkan RSM untuk mengoptimalkan ekstraksi polisakarida tersulfat dari *Gracilaria edulis* dengan mempertimbangkan beberapa kondisi ekstraksi (Arokiarajan et al., 2025). Meskipun demikian, penerapan RSM-BBD pada ekstraksi *Gracilaria verrucosa* menggunakan DES berbasis *choline chloride-glycerol*, dengan variasi waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel, masih relatif terbatas. Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi pengaruh ketiga variabel tersebut terhadap rendemen, kadar abu, dan kemurnian relatif ekstrak.

Penelitian ini bertujuan mengoptimalkan ekstraksi polisakarida dari *Gracilaria verrucosa* menggunakan DES berbasis *choline chloride-glycerol* serta mengoptimalkan kondisi proses menggunakan pendekatan *Box-Behnken Design* dari *Response Surface Methodology* (RSM). Variabel yang dikaji meliputi waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel, sedangkan karakteristik hasil ekstraksi dievaluasi berdasarkan rendemen, kadar abu, dan kemurnian relatif. Karakterisasi *Fourier Transform Infrared* (FTIR) digunakan untuk mengidentifikasi karakteristik gugus fungsi pada hasil ekstraksi dan membandingkannya dengan karakteristik polisakarida yang dilaporkan dalam literatur.

2. METODE

2.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental untuk mengoptimalkan ekstraksi karagenan dari *Gracilaria verrucosa* menggunakan *deep eutectic solvent* (DES) berbasis *choline chloride–glycerol*. Penelitian dilaksanakan di Unit Pelaksana Teknis (UPT) Laboratorium Dasar Universitas Singaperbangsa Karawang. Optimasi dilakukan dengan *Response Surface Methodology* (RSM) menggunakan rancangan *Box–Behnken Design* (BBD) tiga faktor dan tiga taraf, yang menghasilkan 15 kombinasi percobaan. Variabel bebas yang dikaji meliputi waktu ekstraksi (X_1), rasio DES terhadap bahan (X_2), dan ukuran partikel (X_3). Setiap kombinasi perlakuan dilakukan satu kali tanpa ulangan eksperimental, sehingga diperoleh 15 satuan eksperimen. Setiap satuan eksperimen berupa satu proses ekstraksi yang menghasilkan satu sampel untuk pengukuran respon. Respon yang dianalisis meliputi rendemen (Y_1), kadar abu (Y_2), dan kemurnian relatif (Y_3). Kadar air tidak dijadikan sebagai respons dalam penentuan kondisi optimum, melainkan dianalisis sebagai parameter karakterisasi tambahan untuk mengetahui profil kelembapan ekstrak yang dihasilkan. Kadar air tidak dimasukkan ke dalam kriteria optimasi pada *Response Optimizer*, meskipun model matematis kadar air tetap ditampilkan pada Tabel 2 sebagai informasi komplementer mengenai respons fisikokimia produk terhadap variabel proses.

Tabel 1. Faktor dan taraf penelitian

Faktor	Simbol	–1	0	+1
Waktu ekstraksi (jam)	X_1	1	2	3
Rasio DES terhadap bahan	X_2	0,050	0,075	0,100
Ukuran partikel (mesh)	X_3	20	50	80

Hubungan antara variabel bebas dan respon dimodelkan menggunakan persamaan polinomial orde dua berikut.

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

Dimana Y merupakan respon, X_i dan X_j merupakan variabel independen, β_0 adalah konstanta, β_i koefisien linear, β_{ii} koefisien kuadratik, β_{ij} koefisien interaksi (Szpisják-Gulyás, Al-tayawi, Horváth, & László, 2023).

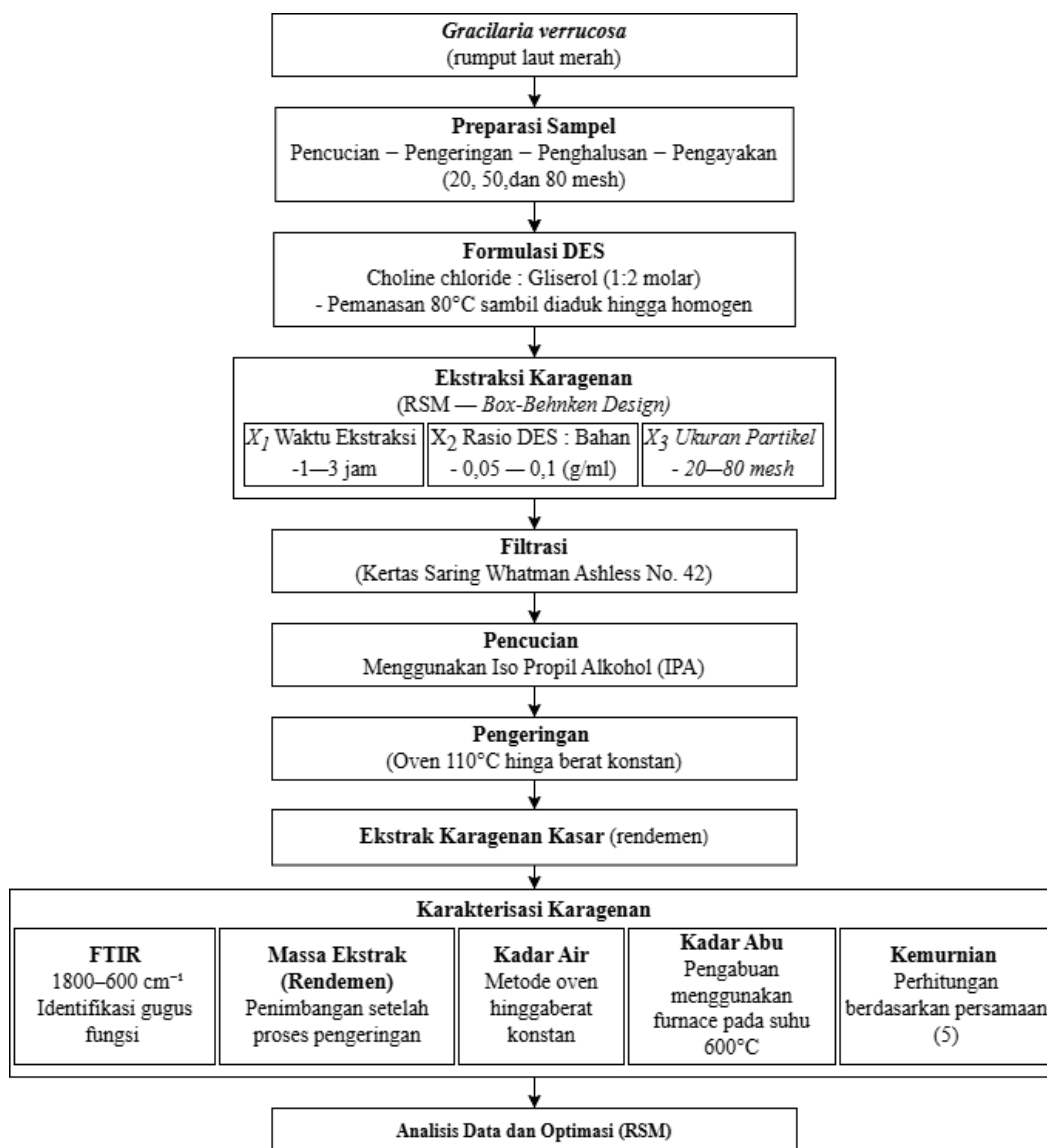
2.2 Bahan dan Alat

Bahan baku yang digunakan yaitu rumput laut merah *Gracilaria verrucosa* yang diperoleh dari Koperasi Pertanian Bumi Agri Agar Makmur, Kecamatan Tirtajaya, Kabupaten Karawang, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan meliputi *choline chloride High Laboratory Reagent* (HI–LR), gliserol *Analytical Reagent* (AR), isopropil alkohol (IPA) *Analytical Reagent* (AR), akuades.

Peralatan utama yang digunakan meliputi *hot plate magnetic stirrer*, *oven*, *furnace*, blender, ayakan 20, 50, 80 mesh, timbangan analitik, desikator, *centrifuge*, *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dengan jenis alat Jasco FT/IR-4600, serta peralatan gelas laboratorium standar.

2.3 Diagram Alir Penelitian

Diagram alir penelitian meliputi preparasi bahan baku, pembuatan DES, ekstraksi karagenan, karakterisasi produk, dan analisis menggunakan RSM. Prosedur ekstraksi diadaptasi dari Das et al., (2016) dengan modifikasi pada jenis DES, rasio DES terhadap bahan, ukuran partikel, dan waktu ekstraksi.



Gambar 1. Diagram alir prosedur penelitian.

2.4 Preparasi Deep Eutectic Solvent

DES dibuat menggunakan *choline chloride* sebagai *hydrogen bond acceptor* (HBA) dan gliserol sebagai *hydrogen bond donor* (HBD) dengan perbandingan molar 1:2. Kedua

komponen dicampurkan kemudian dipanaskan pada suhu 80°C sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga terbentuk larutan homogen dan bening. Larutan didinginkan hingga mencapai suhu ruang sebelum digunakan sebagai pelarut ekstraksi.

2.5 Preparasi Bahan Baku

Rumput laut dicuci menggunakan air mengalir, dikeringkan hingga berat konstan, kemudian digiling dan diayak menjadi ukuran partikel 20, 50, dan 80 mesh sesuai rancangan percobaan.

2.6 Proses Ekstraksi Karagenan

Sebanyak 1 gram serbuk rumput laut diekstraksi menggunakan DES dengan rasio bahan terhadap pelarut sesuai rancangan percobaan (0,050 – 0,100 w/w, setara perbandingan massa 1: 20 hingga 1: 10). Proses ekstraksi dilakukan pada suhu 80°C selama 1 – 3 jam. Filtrat hasil ekstraksi dicuci menggunakan isopropil alkohol untuk menghilangkan sisa DES sekaligus mengendapkan polisakarida. Endapan kemudian dikeringkan hingga berat konstan sehingga diperoleh massa ekstrak polisakarida kasar.

2.7 Analisis Karakteristik Karagenan

Karakterisasi produk dilakukan untuk mengevaluasi kualitas ekstrak karagenan yang dihasilkan dari proses ekstraksi menggunakan DES. Parameter yang dianalisis meliputi massa ekstrak karagenan kasar, kadar air, kadar abu, kemurnian, dan identifikasi gugus fungsi menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR).

2.7.1 Rendemen

Rendemen ekstrak ditentukan secara gravimetri berdasarkan perbandingan massa ekstrak kering yang diperoleh terhadap massa awal rumput laut kering yang digunakan. Perhitungan rendemen mengacu pada metode yang dikemukakan oleh Mendes et al., (2024) dan dilakukan menggunakan Persamaan (3).

$$Rendemen = \frac{C_R}{W_A} \times 100\% \quad (2)$$

Rendemen menunjukkan persentase massa ekstrak kering yang diperoleh (%), C_R menunjukkan massa ekstrak kering yang diperoleh (g), sedangkan W_A menunjukkan massa awal rumput laut kering (g).

2.7.2 Kadar air

Kadar air ditentukan menggunakan metode oven mengacu pada Diharmi, Rusnawati, & Irasari, (2020). Cawan kosong ditimbang untuk memperoleh berat awal (W_0). Sebanyak 1 g sampel karagenan dimasukkan ke dalam cawan, kemudian ditimbang kembali untuk memperoleh berat (W_1). Selanjutnya, sampel dikeringkan dalam oven pada suhu 110°C selama 3–4 jam, didinginkan dalam desikator selama 15–30 menit, lalu ditimbang hingga diperoleh berat konstan (W_2). Nilai kadar air dihitung menggunakan persamaan (3)

$$Kadar\ Air = \frac{W_1 - W_2}{(W_1 - W_0)} \times 100\% \quad (3)$$

2.7.3 Kadar abu

Kadar abu dianalisis secara gravimetri mengacu pada (Diharmi et al., 2020). Cawan kosong ditimbang sebagai berat awal (A), kemudian diisi dengan 1 g sampel karagenan hingga diperoleh berat (B). Sampel diabukan pada suhu 600°C selama 3 jam, didinginkan dalam desikator, lalu ditimbang sebagai berat akhir (C). Nilai kadar abu dihitung menggunakan Persamaan (4).

$$\text{Kadar Abu} = \frac{C - A}{B - A} \times 100\% \quad (4)$$

2.7.4 Kemurnian relatif

Kemurnian relatif ekstrak dihitung berdasarkan massa ekstrak kering setelah dikoreksi terhadap kandungan air dan abu. Perhitungan kemurnian relatif dilakukan menggunakan Persamaan (5) (Ha et al., 2022).

$$\text{Kemurnian Karagenan } (C_p, \%) = \frac{C_R - H_C - A_C}{W_A} \times 100\% \quad (5)$$

C_P menunjukkan kemurnian relatif ekstrak (%), C_R menunjukkan massa ekstrak kering yang diperoleh (g), H_C menunjukkan massa air dalam ekstrak (g), A_C menunjukkan massa abu dalam ekstrak (g), sedangkan W_A menunjukkan massa awal rumput laut kering (g). Nilai yang diperoleh merupakan indeks kemurnian relatif berdasarkan koreksi terhadap kadar air dan kadar abu, sehingga tidak menunjukkan kemurnian kimia absolut.

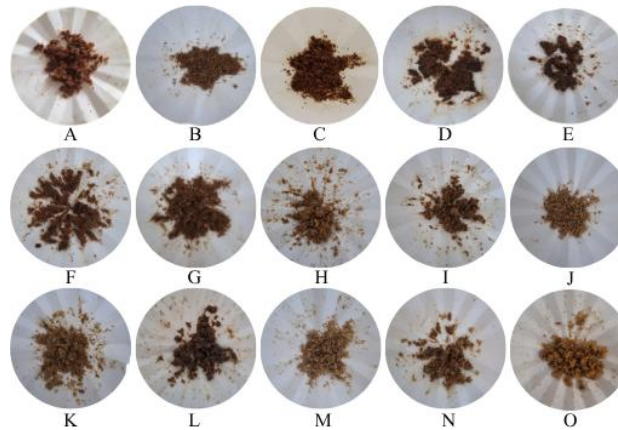
2.7.5 Karakterisasi gugus fungsi

Karakterisasi gugus fungsi dilakukan menggunakan FTIR Jasco FT/IR-4600 pada rentang bilangan gelombang 1800–600 cm^{-1} . Interpretasi spektrum dilakukan dengan membandingkan pita serapan sampel dengan karakteristik gugus fungsi karagenan yang dilaporkan dalam literatur. Pita pada kisaran 928–933 cm^{-1} dikaitkan dengan keberadaan unit 3,6-anhidro-D-galaktosa, sedangkan pita pada kisaran 840–850 cm^{-1} berkaitan dengan gugus D-galaktosa-4-sulfat (G4S). Sementara itu, daerah 1010–1080 cm^{-1} berkaitan dengan vibrasi ikatan glikosidik pada struktur polisakarida (Gómez-Ordóñez & Rupérez, 2011; Setijawati & Firdaus, 2017). Rentang tersebut digunakan sebagai indikator karakteristik struktur karagenan dalam interpretasi spektrum FTIR dan tidak digunakan sebagai satu-satunya dasar untuk memastikan jenis κ -karagenan

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

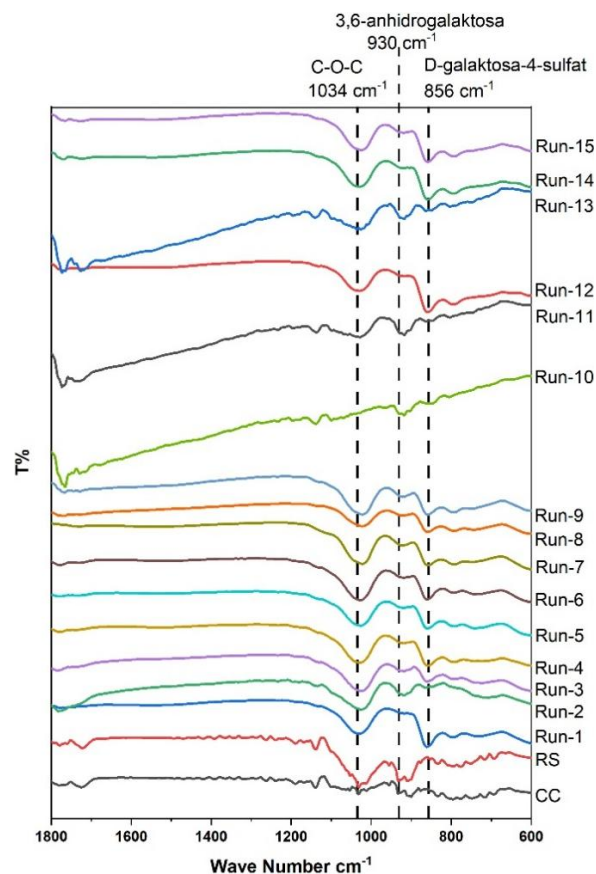
3.1 Karakterisasi Karagenan Hasil Ekstraksi

Karagenan hasil ekstraksi menunjukkan variasi warna dan tekstur pada setiap perlakuan yang ditunjukkan pada Gambar 2. Beberapa sampel berbentuk serbuk, sedangkan sampel lainnya masih menggumpal. Perbedaan tersebut diduga dipengaruhi oleh proses pencucian *deep eutectic solvent* (DES) yang belum sepenuhnya efektif, sehingga sebagian pelarut yang bersifat *viskos* masih tertinggal pada produk dan memengaruhi penampakan fisik karagenan (Dai et al., 2013; Das et al., 2016).



Gambar 2. Karakteristik visual karagenan hasil ekstraksi dari 15 kombinasi perlakuan *Box–Behnken Design* (BBD). Notasi A–O menunjukkan hasil ekstraksi pada run BBD-1 hingga BBD-15 secara berurutan.

Spektrum FTIR ekstrak polisakarida hasil ekstraksi ditunjukkan pada Gambar 3. Spektrum menunjukkan beberapa pita serapan utama pada sekitar 1034, 930, dan 856 cm^{-1} . Pita pada sekitar 1034 cm^{-1} berada pada daerah 1010–1080 cm^{-1} yang berkaitan dengan vibrasi struktur polisakarida. Pita pada sekitar 930 cm^{-1} berada pada kisaran 928–933 cm^{-1} yang dikaitkan dengan keberadaan unit 3,6-anhidro-D-galaktosa. Gugus tersebut merupakan salah satu komponen struktural penting pada karagenan dan dilaporkan terdapat pada κ -karagenan (Gómez-Ordóñez & Rupérez, 2011; Setijawati & Firdaus, 2017).



Gambar 3. Spektrum FTIR karagenan komersial (CC), rumput laut (RS), dan karagenan hasil ekstraksi pada 15 kombinasi perlakuan *Box–Behnken Design* (Run 1–15).

Pita pada sekitar 856 cm^{-1} berada di dekat daerah serapan D-galaktosa-4-sulfat yang dilaporkan pada kisaran $840\text{--}850\text{ cm}^{-1}$ untuk κ -karagenan. Posisi pita tersebut berada di luar kisaran referensi, sehingga pita 856 cm^{-1} tidak digunakan sebagai dasar untuk memastikan keberadaan gugus D-galaktosa-4-sulfat. Secara keseluruhan, spektrum FTIR ekstrak menunjukkan beberapa karakteristik gugus fungsi yang memiliki kesesuaian dengan struktur polisakarida dan karakteristik karagenan yang dilaporkan dalam literatur (Gómez-Ordóñez & Rupérez, 2011; Setijawati & Firdaus, 2017). Kesesuaian pita pada sekitar 930 cm^{-1} dengan karakteristik 3,6-anhidro-D-galaktosa memberikan indikasi karakteristik yang konsisten dengan karagenan. Namun, hasil FTIR pada penelitian ini belum dapat digunakan untuk memastikan identitas atau jenis karagenan secara definitif.

3.2 Analisis Model Response Surface Methodology (RSM)

Model *Response Surface Methodology* (RSM) digunakan untuk mengevaluasi pengaruh waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel terhadap rendemen, kadar air, kadar abu, dan kemurnian karagenan. Kelayakan model dievaluasi berdasarkan koefisien determinasi (R^2) dan analisis varians (ANOVA), sebagaimana disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Ringkasan statistik model dan hasil analisis varians (ANOVA) untuk setiap respon

Parameter	Rendemen	Kadar Air	Kadar Abu	Kemurnian
Statistik Model				
S	35,2127	278,379	0,4748	278,720
R^2 (%)	89,70	70,26	94,56	85,19
R^2 Adjusted (%)	71,17	16,72	84,77	58,53
P-value ANOVA				
Model	0,049	0,401	0,011	0,107
Linear				
Waktu (X_1)	0,012	0,185	0,143	0,301
Rasio DES:bahan (X_2)	0,118	0,356	0,002	0,325
Ukuran partikel (X_3)	0,009	0,385	0,011	0,010
Kuadratik				
X_1^2	0,367	0,883	0,245	0,948
X_2^2	0,170	0,063	0,066	0,341
X_3^2	0,829	0,419	0,066	0,247
Interaksi				
$X_1 \times X_2$	0,267	0,369	0,058	0,247
$X_1 \times X_3$	0,276	0,734	0,691	0,073
$X_2 \times X_3$	0,542	0,772	0,018	0,673

Nilai R^2 yang diperoleh untuk rendemen, kadar air, kadar abu, dan kemurnian berturut-turut sebesar 89,70%, 70,26%, 94,56%, dan 85,19%, yang menunjukkan bahwa model mampu menjelaskan sebagian besar variasi data, terutama pada respon rendemen dan kadar abu. Nilai R^2 adjusted sebesar 71,17% untuk rendemen dan 84,77% untuk kadar abu menunjukkan bahwa kedua model memiliki kemampuan yang baik dalam merepresentasikan hubungan antara variabel proses dan respon, sejalan dengan studi optimasi ekstraksi polisakarida lain yang tetap

menganggap model RSM cukup baik meski nilai R^2 berada pada rentang 0,64–0,79 (Garcia-Vaquero, et al., 2018).

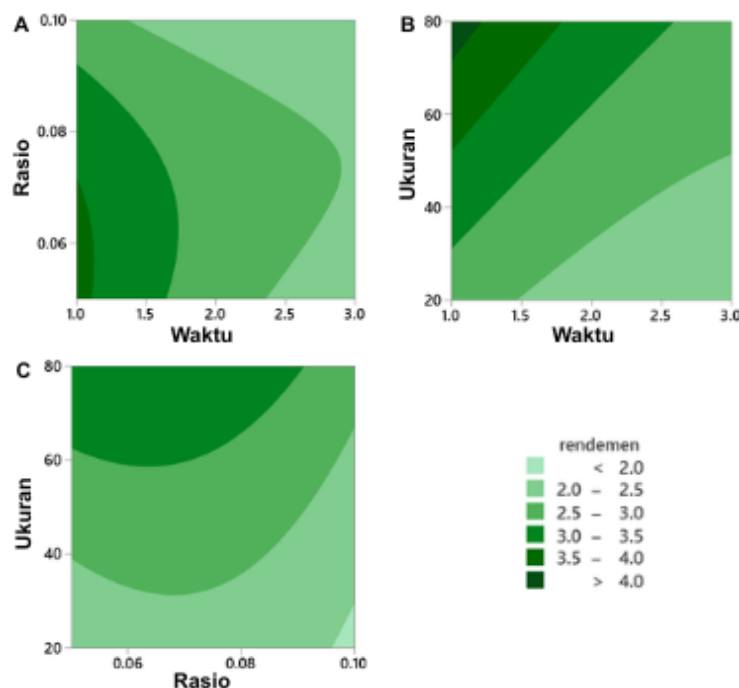
Hasil ANOVA menunjukkan bahwa model untuk rendemen ($p = 0,049$) dan kadar abu ($p = 0,011$) signifikan pada taraf kepercayaan 95%, sedangkan model kadar air ($p = 0,401$) dan kemurnian ($p = 0,107$) tidak menunjukkan signifikansi statistik. Secara parsial, ukuran partikel merupakan faktor yang berpengaruh nyata terhadap rendemen ($p = 0,009$) dan kemurnian ($p = 0,010$), sedangkan rasio DES terhadap bahan berpengaruh signifikan terhadap kadar abu ($p = 0,002$). Hasil ini menunjukkan bahwa pengaruh setiap variabel bergantung pada respon yang diamati, sehingga diperlukan pembahasan lebih lanjut terhadap masing-masing respon.

3.3 Pengaruh Variabel Proses terhadap Karakteristik Karagenan

Pengaruh waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel terhadap karakteristik karagenan dianalisis berdasarkan model RSM melalui interpretasi hasil ANOVA dan *contour plot* untuk setiap respon.

3.3.1 Rendemen karagenan

Rendemen merupakan parameter utama untuk mengevaluasi efektivitas proses ekstraksi karagenan. Pada penelitian ini, massa ekstrak karagenan yang diperoleh berkisar antara 1,88–4,57 g. Berdasarkan analisis RSM, model rendemen signifikan ($p = 0,049$) dengan nilai R^2 sebesar 89,70%, yang menunjukkan bahwa model mampu menjelaskan sebagian besar variasi data.



Gambar 4. *Contour plot* prediksi rendemen karagenan berdasarkan model RSM yang menunjukkan interaksi antara (A) rasio DES terhadap bahan dan waktu ekstraksi, (B) ukuran partikel dan waktu ekstraksi, serta (C) ukuran partikel dan rasio DES terhadap bahan.

Contour plot pada Gambar 4 menunjukkan bahwa rendemen dipengaruhi oleh kombinasi waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel. Rendemen tertinggi diperoleh pada ukuran partikel yang lebih halus dengan waktu ekstraksi yang relatif singkat, sedangkan

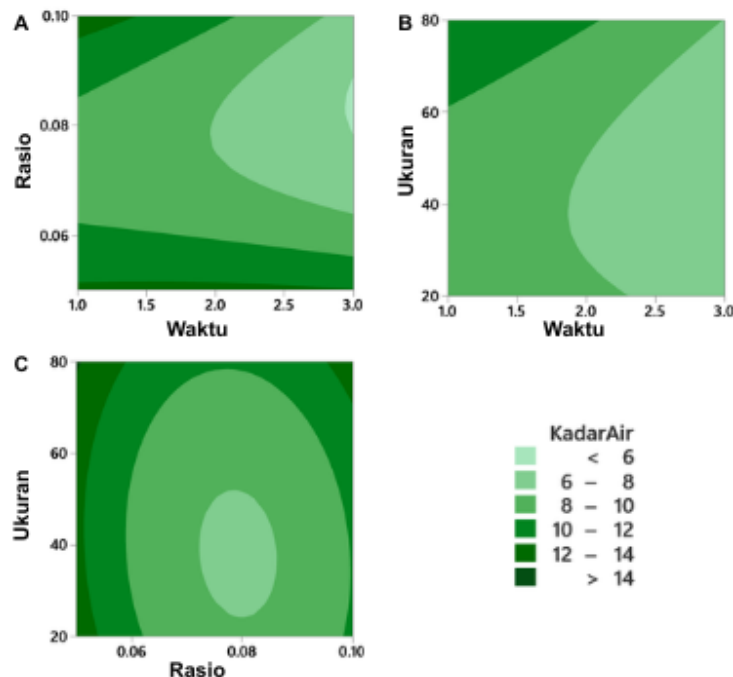
waktu ekstraksi yang lebih lama cenderung menurunkan rendemen. Ukuran partikel yang lebih kecil meningkatkan luas permukaan kontak antara bahan dan pelarut, sehingga mempercepat penetrasi DES dan perpindahan massa karagenan menuju pelarut melalui tahapan penetrasi pelarut, difusi internal, dan difusi eksternal (Y. Wang, Wang, & Guo, 2019).

Pengaruh ukuran partikel terhadap ekstraksi karagenan tidak selalu konsisten di antara berbagai spesies rumput laut; Bahari et al., (2021) melaporkan bahwa ekstraksi karagenan dari *Chondrus crispus* tidak sepenuhnya bergantung pada luas permukaan partikel, Perbedaan ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan spesies rumput laut, jenis pelarut, dan kondisi ekstraksi yang digunakan. Pada penelitian ini, pengaruh ukuran partikel yang signifikan terhadap rendemen ($p = 0,009$) mengindikasikan bahwa mekanisme perpindahan massa berbasis luas permukaan tetap berperan penting dalam sistem ekstraksi berbasis DES yang digunakan.

Ukuran partikel yang lebih kecil meningkatkan luas permukaan kontak sehingga mempercepat penetrasi DES dan perpindahan massa karagenan ke dalam pelarut. Sebaliknya, waktu ekstraksi yang terlalu lama menyebabkan proses mendekati kesetimbangan sehingga peningkatan rendemen menjadi tidak signifikan. Mekanisme ini menunjukkan bahwa DES mampu meningkatkan efisiensi ekstraksi melalui penetrasi pelarut yang lebih efektif ke dalam jaringan rumput laut (Das et al., 2016; Dong et al., 2020).

3.3.2 Kadar air

Kadar air karagenan yang diperoleh pada penelitian ini berkisar antara 4,70–14,00%. Berdasarkan analisis RSM, model kadar air tidak signifikan ($p = 0,401$), sehingga model belum menunjukkan hubungan yang signifikan antara variabel ekstraksi dan kadar air pada taraf signifikansi 5%. *Contour plot* pada Gambar 5 menunjukkan kecenderungan perubahan kadar air pada berbagai kombinasi waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel.

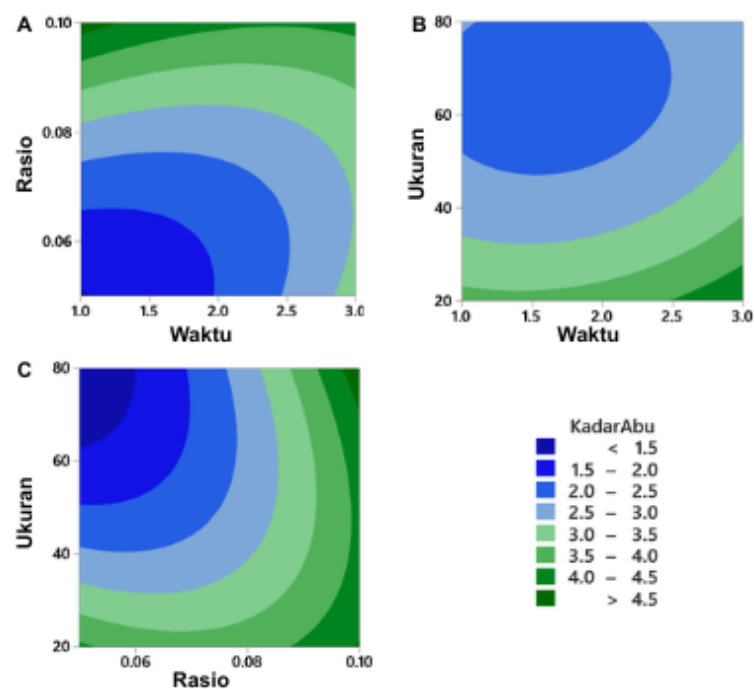


Gambar 5. *Contour plot* prediksi kadar air karagenan berdasarkan model RSM yang menunjukkan interaksi antara (A) rasio DES terhadap bahan dan waktu ekstraksi, (B) ukuran partikel dan waktu ekstraksi, serta (C) ukuran partikel dan rasio DES terhadap bahan.

Contour plot pada Gambar 5 menunjukkan kecenderungan penurunan nilai prediksi kadar air pada waktu ekstraksi yang lebih lama dan ukuran partikel yang lebih halus. Kecenderungan tersebut hanya menggambarkan pola berdasarkan prediksi model dan tidak dapat diinterpretasikan sebagai pengaruh signifikan variabel proses terhadap kadar air karena model yang diperoleh tidak signifikan ($p = 0,401$). Kadar air juga dapat dipengaruhi oleh proses pencucian dan pengeringan serta kemungkinan masih adanya sisa DES terhidrasi pada produk. Air yang terikat dalam sistem DES terhidrasi cenderung lebih sulit menguap dibandingkan air bebas sehingga berpotensi tertinggal dalam produk akhir (Hardiningtyas et al., 2024). Kondisi tersebut dapat menjadi salah satu faktor yang menyebabkan hubungan antara variabel proses dan kadar air tidak menunjukkan pengaruh yang nyata dalam analisis RSM pada penelitian ini.

3.3.3 Kadar Abu

Kadar abu karagenan yang diperoleh berkisar antara 0,98–5,01%. Model RSM menunjukkan bahwa kadar abu dipengaruhi secara signifikan oleh kondisi ekstraksi ($p = 0,011$; $R^2 = 94,56\%$). *Contour plot* pada Gambar 6 memperlihatkan kecenderungan peningkatan kadar abu pada rasio DES yang lebih tinggi, waktu ekstraksi yang lebih lama, dan ukuran partikel yang lebih kasar (20 mesh), yang menunjukkan bahwa komponen mineral belum terpisahkan secara optimal.



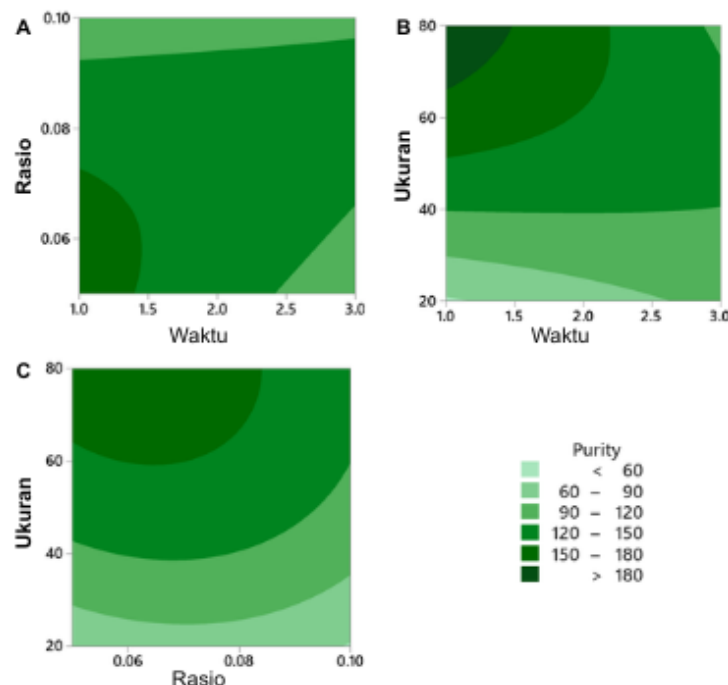
Gambar 6. *Contour plot* prediksi kadar abu karagenan berdasarkan model RSM yang menunjukkan interaksi antara (A) rasio DES terhadap bahan dan waktu ekstraksi, (B) ukuran partikel dan waktu ekstraksi, serta (C) ukuran partikel dan rasio DES terhadap bahan.

Kadar abu mencerminkan kandungan mineral anorganik yang masih tersisa pada karagenan setelah proses ekstraksi. Nilai ini dipengaruhi oleh efektivitas pelindian mineral dan proses pencucian, sehingga kondisi ekstraksi yang kurang optimal dapat menyebabkan residu mineral tetap tertinggal pada produk. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa variasi kondisi

ekstraksi berperan dalam menentukan kadar abu karagenan (Diharmi et al., 2020; Rhein-Knudsen & Meyer, 2021).

3.3.4 Kemurnian karagenan

Kemurnian karagenan yang diperoleh pada penelitian ini berkisar antara 39,0–224,4%. Nilai tersebut dihitung berdasarkan persamaan yang mengintegrasikan massa ekstrak, kadar air, dan kadar abu, sehingga merepresentasikan indeks kemurnian relatif dan bukan kemurnian kimia absolut. Berdasarkan analisis RSM, model kemurnian tidak signifikan ($p = 0,107$) dengan nilai R^2 sebesar 85,19%. Meskipun demikian, *contour plot* pada Gambar 7 menunjukkan kecenderungan peningkatan kemurnian pada ukuran partikel yang lebih halus (60–80 mesh), waktu ekstraksi yang lebih singkat, dan rasio DES terhadap bahan yang rendah hingga menengah.



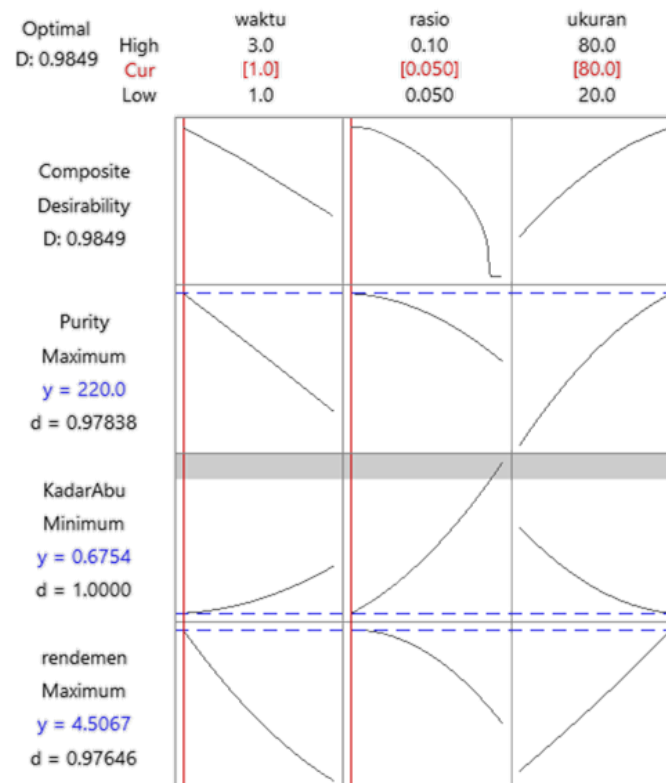
Gambar 7. *Contour plot* prediksi kemurnian karagenan berdasarkan model RSM yang menunjukkan interaksi antara (A) rasio DES terhadap bahan dan waktu ekstraksi, (B) ukuran partikel dan waktu ekstraksi, serta (C) ukuran partikel dan rasio DES terhadap bahan.

Kemurnian karagenan dipengaruhi oleh jumlah karagenan yang berhasil diekstraksi serta kandungan air dan mineral yang masih tersisa pada produk. Oleh karena itu, kondisi ekstraksi yang menghasilkan rendemen lebih tinggi dengan kadar air dan kadar abu yang lebih rendah cenderung meningkatkan kemurnian karagenan. Temuan ini menunjukkan bahwa efektivitas proses ekstraksi dan pemurnian berperan penting dalam meningkatkan kualitas polisakarida dengan meminimalkan kandungan pengotor pada produk akhir (Ha et al., 2022).

3.4 Kondisi Optimum Berdasarkan Model RSM

Optimasi dilakukan menggunakan *Response Optimizer* pada perangkat lunak Minitab untuk memperoleh kombinasi variabel proses yang menghasilkan respons sesuai dengan tujuan yang ditetapkan. Optimasi dilakukan terhadap tiga respons utama, yaitu rendemen, kadar abu, dan kemurnian relatif. Berdasarkan hasil optimasi numerik, kondisi optimum berdasarkan

prediksi model diperoleh pada waktu ekstraksi 3 jam, rasio DES terhadap bahan 0,10, dan ukuran partikel 80 mesh. Hasil *Response Optimizer* tersebut ditunjukkan pada Gambar 8.



Gambar 8. Hasil *Response Optimizer* berdasarkan model *Response Surface Methodology* (RSM) untuk optimasi ekstraksi karagenan menggunakan tiga respon, yaitu rendemen, kadar abu, dan kemurnian.

Berdasarkan Gambar 8, nilai *composite desirability* yang diperoleh sebesar 0,9849. Nilai tersebut menunjukkan tingkat kesesuaian respons yang diprediksi model terhadap tujuan optimasi yang ditetapkan dan bukan menunjukkan tingkat akurasi model terhadap hasil eksperimen aktual (Derringer & Suich, 1980). Pada kombinasi kondisi tersebut, model memprediksi rendemen sebesar 4,5067 g, kadar abu sebesar 0,6754%, dan kemurnian relatif sebesar 220%. Nilai tersebut merupakan hasil prediksi model RSM dan bukan hasil pengukuran eksperimental pada kondisi optimum.

Penelitian ini tidak melakukan validasi eksperimental terhadap kondisi optimum yang diperoleh. Kesesuaian antara nilai prediksi dan nilai aktual pada kondisi optimum tersebut belum dapat dikonfirmasi. Kondisi optimum berdasarkan prediksi model ini dapat dijadikan sebagai rekomendasi parameter proses untuk penelitian selanjutnya yang dilengkapi dengan validasi eksperimental secara langsung.

4. KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa *Response Surface Methodology* (RSM) dengan rancangan *Box–Behnken Design* (BBD) dapat digunakan untuk menganalisis hubungan antara waktu ekstraksi, rasio DES terhadap bahan, dan ukuran partikel terhadap karakteristik ekstrak polisakarida dari *Gracilaria verrucosa*. Model matematis untuk massa ekstrak kasar dan kadar

abu terbukti signifikan secara statistik ($p < 0,05$), sedangkan model untuk kadar air dan indeks kemurnian relatif tidak signifikan pada taraf 5% ($p > 0,05$). Hasil karakterisasi FTIR menunjukkan adanya pita serapan pada sekitar 1034 cm^{-1} dan 930 cm^{-1} yang memiliki kesesuaian dengan karakteristik gugus fungsi polisakarida dan beberapa fitur khas karagenan, sedangkan pita serapan pada sekitar 856 cm^{-1} berada di luar kisaran $840\text{--}850\text{ cm}^{-1}$ yang dilaporkan untuk gugus D-galaktosa-4-sulfat. Hasil tersebut mengindikasikan bahwa analisis FTIR pada penelitian ini belum dapat digunakan untuk memastikan identitas atau jenis karagenan secara definitif, sehingga produk hasil ekstraksi lebih tepat didefinisikan sebagai ekstrak polisakarida. Optimasi numerik menghasilkan kombinasi kondisi proses berdasarkan prediksi model pada waktu ekstraksi 3 jam, rasio DES terhadap bahan 0,100 g/mL, dan ukuran partikel 80 mesh dengan *composite desirability* sebesar 0,9849. Pada kondisi tersebut, model memprediksi massa ekstrak sebesar 4,5067 g, kadar abu sebesar 0,6754%, dan indeks kemurnian relatif sebesar 220%. Nilai-nilai tersebut merupakan hasil prediksi matematis model dan belum dikonfirmasi melalui validasi eksperimental, sehingga kondisi tersebut belum dapat dinyatakan sebagai kondisi optimum yang terverifikasi secara aktual. Validasi eksperimental pada kondisi yang diprediksi diperlukan untuk mengonfirmasi kesesuaian antara nilai prediksi model dan hasil pengukuran aktual.

DAFTAR PUSTAKA

- Arokiarajan, M. S., Thirunavukkarasu, R., Srinivasan, N., Francis, M., Selvaraj, B., Al-Sadoon, M. K., & Subramanian, K. (2025). Optimization of Carrageenan Extraction From *Gracilaria edulis* and Determination of Its Antioxidant Activity. *Starch - Stärke*, 77(5), e70011. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/star.70011>
- Bahari, A., Moelants, K., Kloeck, M., Wallecan, J., Mangiante, G., Mazoyer, J., ... Grauwet, T. (2021). Mechanical Disintegration and Particle Size Sieving of *Chondrus crispus* (Irish Moss) Gametophytes and Their Effect on Carrageenan and Phycoerythrin Extraction. *Foods (Basel, Switzerland)*, 10(12). <https://doi.org/10.3390/foods10122928>
- Dai, Y., van Spronsen, J., Witkamp, G. J., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2013). Natural deep eutectic solvents as new potential media for green technology. *Analytica Chimica Acta*, 766, 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2012.12.019>
- Das, A. K., Sharma, M., Mondal, D., & Prasad, K. (2016). Deep eutectic solvents as efficient solvent system for the extraction of K-carrageenan from *Kappaphycus alvarezii*. *Carbohydrate Polymers*, 136, 930–935. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.114>
- Derringer, G., & Suich, R. (1980). Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214–219. <https://doi.org/10.1080/00224065.1980.11980968>
- Diharmi, A., Rusnawati, & Irasari, N. (2020). Characteristic of carrageenan *Eucheuma cottonii* collected from the coast of Tanjung Medang Village and Jaga Island, Riau. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 404(1), 12049. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/404/1/012049>
- Djurumudi, S. L., Montolalu, R. I., Pongoh, J., Dotulong, V., Lohoo, H. J., & Makapedua, D. M. (2022). Mutu Karagenan dengan Menggunakan Pelarut dan Metode Ekstraksi Berbeda. *Media Teknologi Hasil Perikanan*, 10(2), 80–85. <https://doi.org/10.35800/mthp.10.2.2022.34495>
- Dong, M., Jiang, Y., Wang, C., Yang, Q., Jiang, X., & Zhu, C. (2020). Determination of the Extraction, Physicochemical Characterization, and Digestibility of Sulfated Polysaccharides in Seaweed-*Porphyra haitanensis*. *Marine Drugs*, 18(11). <https://doi.org/10.3390/md18110539>
- Ferdiansyah, R., Abdassah, M., Zainuddin, A., Rachmaniar, R., & Chaerunisaa, A. Y. (2023). Effects of Alkaline Solvent Type and pH on Solid Physical Properties of Carrageenan from *Eucheuma cottonii*. *Gels*, Vol. 9, p. 397. <https://doi.org/10.3390/gels9050397>
- Ferdouse, F., Holdt, S. L., Smith, R., Murua, P., & Yang, Z. (2018). The global status of seaweed production, trade and utilization. In *FAO GLOBEFISH Research Programme* (Vol. 124). Rome,

- Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Garcia-Vaquero, M., Rajauria, G., Tiwari, B., Sweeney, T., & O'Doherty, J. (2018). Extraction and Yield Optimisation of Fucose, Glucans and Associated Antioxidant Activities from *Laminaria digitata* by Applying Response Surface Methodology to High Intensity Ultrasound-Assisted Extraction. *Marine Drugs*, 16(8). <https://doi.org/10.3390/md16080257>
- Gómez-Ordóñez, E., & Rupérez, P. (2011). Food Hydrocolloids FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. *Food Hydrocolloids*, 25(6), 1514–1520. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.02.009>
- Ha, H. T., Cuong, D. X., Thuy, L. H., Thuan, P. T., Tuyen, D. T., Mo, V. T., & Dong, D. H. (2022). Carrageenan of Red Algae *Eucheuma gelatinae*: Extraction, Antioxidant Activity, Rheology Characteristics, and Physicochemistry Characterization. *Molecules*, Vol. 27, p. 1268. <https://doi.org/10.3390/molecules27041268>
- Hardiningtyas, S. D., Al Haqqy, R. I., Albarokah, N., Ramadhan, W., Uju, Pari, R. F., ... Moriyama, K. (2024). Extraction of Polysaccharide Ulvan from Green Seaweed *Ulva lactuca* via Hydrated Deep Eutectic Solvents. ChemRxiv (Cambridge Open Engage). <https://doi.org/10.26434/chemrxiv-2024-dl0cz>
- Hasizah, A., Mahendradatta, M., Laga, A., Metusalach, M., & Salengke, S. (2021). Extraction of carrageenan from *Eucheuma spinosum* using ohmic heating: optimization of extraction conditions using response surface methodology. *Food Science and Technology*, 41(4), 928–937. <https://doi.org/10.1590/fst.26220>
- Mendes, M., Cotas, J., Gutiérrez, I. B., Gonçalves, A. M. M., Critchley, A. T., Hinaloc, L. A. R., ... Pereira, L. (2024). Advanced Extraction Techniques and Physicochemical Properties of Carrageenan from a Novel *Kappaphycus alvarezii* Cultivar. *Marine Drugs*, Vol. 22, p. 491. <https://doi.org/10.3390/md22110491>
- Rhein-Knudsen, N., & Meyer, A. S. (2021). Trends in Food Science & Technology Chemistry, gelation, and enzymatic modification of seaweed food hydrocolloids. *Trends in Food Science & Technology*, 109(January), 608–621. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.052>
- Setijawati, D., & Firdaus, M. (2017). Penggunaan *Eucheuma* sp dan Chitosan Sebagai Bahan Edible Film terhadap Kualitasnya. *Journal of Fisheries and Marine Research*, 1(1), 1–8. <https://doi.org/10.21776/ub.jfmr.2017.001.01.2>
- Szpisják-Gulyás, N., Al-tayawi, A. N., Horváth, Z. H., & László, Z. (2023). Methods for experimental design, central composite design and the Box – Behnken design, to optimise operational parameters: A review. <https://doi.org/10.1556/066.2023.00235>
- 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/https://doi.org/10.1556/066.2023.00235>
- Tabrani, Angkasa, W. I., & Deviarini, I. M. (2024). Analysis of Seaweed Agroindustry Management in Indonesia: Potential, Challenges, and Prospects. *Science Journal of Business and Management*, 12(2), 27–38. <https://doi.org/10.11648/j.sjbm.20241202.11>
- Wang, H., Liu, Y., Zhang, J., Du, B., & Yang, Y. (2023). Optimization of Accelerated Solvent Extraction of Polysaccharides from *Gracilaria lemaneiformis* Using Response Surface Methodology and Anti-inflammatory Activity. *Science and Technology of Food Industry*, 44(23), 110–117. <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023030309>
- Wang, Y., Wang, C., & Guo, M. (2019). Effects of Ultrasound Treatment on Extraction and Rheological Properties of Polysaccharides from *Auricularia Cornea* var. *Li*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(5). <https://doi.org/10.3390/molecules24050939>

-
- Webber, V., de Carvalho, S. M., Ogliari, P. J., Hayashi, L., & Barreto, P. L. M. (2012). Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. *Food Science and Technology (Campinas)*, 32(4), 812–818. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000111>
- Zhang, J., Waldron, S., Langford, Z., Julianto, B., & Martin, A. (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>