

3. METODE EKSTRAKSI DAN PENGARUHNYA TERHADAP YIELD FIKOBILIPROTEIN

Metode ekstraksi dilakukan dengan tahapan pendahuluan (*pre-treatment*) dan tahap isolasi/ekstraksi (Kannaujiya et al., 2017; Mysliwa-Kurdziel & Solymosi, 2016). Tahap pendahuluan terdiri dari pembersihan & penghancuran sel (Michalak & Chojnacka, 2014) serta tahap ekstraksi dilakukan secara konvensional maupun non-konvensional. Pada pembahasan ini, *yield* dan indeks purifikasi dari fikoeritrin (Tabel 4 dan Tabel 5), fikosianin (Tabel 6), dan alofikosianin (Tabel 7) akan diulas berdasarkan metode yang dilaporkan di berbagai penelitian sebelumnya.

Pada tahap pendahuluan, pencucian rumput laut merah dapat dilakukan dengan menggunakan air laut, air biasa, dan air distilasi, walau tidak semua penelitian membahas secara rinci mengenai hal ini. Sementara itu, metode pengeringan dapat dilakukan dengan metode beku (*freeze-drying*), atau tidak dilakukan pengeringan (menggunakan sampel segar). Tahap penghancuran sel dapat dilakukan dengan pemotongan, penghancuran/penghalusan (*ground*) dan penghalusan dalam nitrogen cair (*cryoground*). Setelah itu, ada beberapa metode ekstraksi yang digunakan seperti metode konvensional dengan maserasi, homogenisasi dan ekstraksi secara serial, maupun metode non-konvensional seperti *freezing* dan *thawing* berulang, *ultrasonic* dan enzimatis.

Masing-masing metode dapat menghasilkan *yield* yang berbeda berdasarkan parameter yang digunakan. Selain itu terdapat kombinasi metode seperti gabungan antara maserasi atau homogenisasi dengan metode non-konvensional (Tabel 5). Kannaujiya et al., (2017) dan Li et al., (2019) menyatakan bahwa kombinasi metode penting dilakukan untuk dapat menghasilkan *yield* maupun indeks purifikasi yang optimum. Sayangnya, tidak semua penelitian menggunakan metode pengukuran indeks purifikasi, sehingga dalam perbandingan indeks purifikasi tidak lengkap.

3.1. Fikoeritrin

Metode ekstraksi fikoeritrin dapat dilihat pada Tabel 4 dan Tabel 5. Pada Tabel 4, dapat dilihat metode yang digunakan berupa maserasi, *ekstraksi serial*, homogenisasi, maserasi pada nitrogen cair, ultrasonik dan *freezing-thawing*. Sampel yang digunakan berupa rumput laut merah dengan spesies *Centroceras clavulatum*, *Gelidium pusillum*, *Mastocarpus stellatus*,

Grateloupia turuturu, *Gracilaria gracilis*, *Gracilaria chilensis*, *Gracilaria crassa*, *Polysiphonia urceolata*, *Acanthophora spicifera*, *Gracilaria changii*, *Palmaria palmata*, *Halymenia floresia*, *Pyropia haitanensis*, *Gracilaria corticata*, *Gracilaria edulis*, *Gracilaria salicornia*, *Gelidiella acerosa*, *Hypnea esperi*, *Laurencia papillosa*, *Portieria hornemannii*, *Sarconema filiforme*, *Agardhiella subulata*, *Gracilaria vermiculophylla*, *Gracilariopsis longissima*, dan *Polysiphonia morrowii*.

3.1.1. Tahap Pendahuluan (*Pre-treatment*)

Pada Tabel 4, dapat dilihat bahwa perlakuan pendahuluan memberikan dampak pada *yield* dan indeks purifikasi, seperti pada spesies *Mastocarpus Stellatus*, *Gracilaria gracilis*, dan *Grateloupia turuturu* yang menghasilkan *yield* dan indeks purifikasi yang berbeda sekalipun parameter dan metode yang digunakan sama (maserasi). Pada spesies *Mastocarpus stellatus* dan *Gracilaria gracilis* hanya dilakukan pencucian dan pengeringan beku, sedangkan *Grateloupia turuturu* dilakukan hal yang sama ditambah dengan penghalusan (*ground*). *Yield* dan indeks purifikasi yang dihasilkan oleh *Grateloupia turuturu* lebih tinggi (5,28 mg/g dw; 0,41) dibandingkan *Mastocarpus stellatus* (0,27 mg/g dw; 0,14) dan *Gracilaria gracilis* (1,26 mg/g dw; 0,29) (Nguyen *et al.*, 2018; Nguyen *et al.*, 2019; Munier *et al.*, 2015). Begitu pula *Gracilaria gracilis* pada metode *ekstraksi serial*, perlakuan pengeringan beku, penghancuran dengan alumina dan pengayakan menghasilkan *yield* yang lebih baik dibandingkan sampel lain (Francavilla *et al.*, 2013).

Penelitian Dumay *et al.*, (2013) dengan metode homogenisasi (Tabel 4) juga menunjukkan bahwa *Palmaria palmata* yang mendapatkan perlakuan pendahuluan pengeringan dingin dan dihaluskan pada nitrogen cair menghasilkan *yield* lebih tinggi (1,74 mg/g dw) dibandingkan sampel dengan perlakuan pendahuluan berupa pengeringan dingin & pemotongan atau penghalusan tanpa nitrogen cair dan sampel tanpa pengeringan beku (segar). Nguyen *et al.* (2016) juga meneliti *M. stellatus* dengan metode homogenisasi menunjukkan *yield* dan indeks purifikasi yang lebih baik dihasilkan dari sampel yang melalui proses *freeze-drying* dan penghalusan dalam nitrogen cair (0,91 mg/g dw; 0,35) dibandingkan sampel segar yang dihaluskan pada nitrogen cair (0,32 mg/g dw; 0,06). Dari beberapa penelitian lainnya juga dapat diketahui bahwa perlakuan pendahuluan terbaik adalah pencucian, pengeringan beku (*freeze-drying*) dan dilanjutkan dengan penghalusan dengan nitrogen.

Freeze drying atau *lyophilization* berprinsip pada pengurangan jumlah air dengan cara sublimasi dari bahan yang beku (Nguyen *et al.*, 2016). Tidak adanya air dan rendahnya suhu yang dibutuhkan membuat kerusakan (*deterioration*) pada sel dan menghentikan reaksi mikroba, fase padat dari air juga melindungi struktur primer selama proses (Ratti, 2001). Penghalusan pada nitrogen cair mampu memfasilitasi kerusakan dinding sel yang merupakan penghambat utama dari ekstraksi dan pemulihan fikoeritrin (R-PE) (Fleurence, 2003).

3.1.2. Maserasi

Berdasarkan Tabel 4, metode maserasi pada beberapa penelitian menggunakan larutan *buffer* fosfat sesuai dengan ekstraksi fikobiliprotein dibandingkan air laut, air biasa (*tap water*) dan air distilasi (Nguyen *et al.*, 2018). Penelitian Munier *et al.* (2015) membuktikan bahwa ekstrak dari *Grateloupia turuturu* memiliki *yield* tertinggi (5.28 mg/g dw) dibandingkan penelitian dengan menggunakan *buffer* lainnya.

Namun, pada penelitian Sudhakar *et al.* (2015), larutan *buffer* tidak memberikan hasil terbaik dibandingkan air distilasi maupun air laut. Larutan *buffer* memberikan *yield* lebih rendah (0,37 mg/g dw) dari air distilasi (0,50 mg/g dw) dan indeks purifikasi lebih rendah (0,23) dibandingkan air laut (0,3). Hal ini dijelaskan oleh Sudhakar *et al.* (2015) bahwa setiap larutan yang digunakan memiliki nilai absorbansi yang berbeda walau tidak berbeda secara signifikan (Sudhakar *et al.*, 2015). Nilai absorbansi maksimal hasil ekstraksi dengan menggunakan *buffer* fosfat terdapat pada 564 nm untuk fikoeritrin (R-PE) dan 615 nm untuk fikosianin (R-PC) (Sudhakar *et al.*, 2015). Sedangkan untuk hasil ekstraksi dari air distilasi terdapat pada 543 nm dan 563 nm untuk R-PE sedangkan untuk R-PC tidak terlihat (Sudhakar *et al.*, 2015). Hasil yang kurang lebih sama juga ditunjukkan oleh air laut, yaitu R-PE terlihat pada gelombang 565 nm dan R-PC tidak terlihat (Sudhakar *et al.*, 2015). Dumay & Morançais, 2016 menambahkan bahwa larutan *buffer* tidak dapat meningkatkan hasil ekstraksi tetapi mampu melindungi komponen dari variasi pH.

Pada proses maserasi, larutan *buffer* fosfat yang digunakan memiliki rentang pH 6,4-7,4 dan air distilasi serta air laut berkisar pH 7-8,13, kisaran pH tersebut tidak memberikan perbedaan secara signifikan. Sementara suhu yang digunakan adalah 4°C pada sebagian besar penelitian, kecuali *Gracilaria crassa* yang menggunakan suhu ruang selama proses ekstraksi (Sudhakar *et al.*, 2015). Hal ini memberikan perbedaan *yield* *Gracilaria crassa* dan *Polysiphonia urceolata* yang diproses dengan pelarut yang sama (air distilasi) selama 24 jam pada suhu 4°C.

Hasil ekstraksi dari *Polysiphonia urceolata* memiliki *yield* yang lebih tinggi (1,57 mg/g fw) (Niu *et al.*, 2006). Namun, hal ini belum dapat dipastikan karena pada penelitiannya, Sudhakar *et al.* (2015) tidak menjelaskan lamanya waktu maserasi.

Waktu maserasi tidak selalu dijelaskan dalam penelitian, tetapi rata-rata proses maserasi membutuhkan waktu minimal 20 menit hingga 24 jam, hal ini sesuai dengan keterangan Dumay & Morançais (2016). Hasil ekstraksi dari *Gelidium pusillum* membuktikan mampu menghasilkan *yield* yang lebih tinggi (1.19 mg/g dw) bila dibandingkan dengan *Mastocarpus stellatus* (0,27 mg/g dw) karena memiliki waktu maserasi lebih lama (45 menit) sekalipun tidak melalui proses pendahuluan. Mittal *et al.* (2017) juga membuktikan bahwa semakin lama waktu maserasi semakin banyak bagian rumput laut yang rusak (Gambar 11).



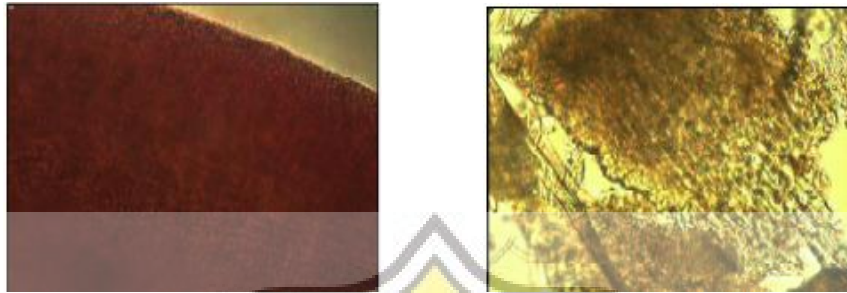
Gambar 11. Perbandingan Bagian Rumput Laut secara Mikroskopik antara Kontrol/Tanpa Perlakuan (kiri), Maserasi selama 10 Menit (tengah) dan Maserasi selama 45 Menit (kanan) (Mittal *et al.*, 2017)

3.1.3. Ekstraksi serial (SE)

Pada SE dilakukan ekstraksi berulang dengan larutan *buffer* hingga didapatkan hasil terbaik. Beberapa literatur seperti Francavilla *et al.* (2013) dan Rubi *et al.* (2019) menggunakan larutan *buffer* asam asetat-natrium asetat + 0.01% natrium azida. Sedangkan, Mittal *et al.* (2017) memilih menggunakan larutan *buffer* natrium fosfat. Setiap *buffer* memiliki parameter optimumnya masing-masing. Pada proses dengan menggunakan larutan *buffer* fosfat memerlukan waktu 60 menit dan membutuhkan 5 siklus dibandingkan dengan proses dengan menggunakan larutan *buffer* asam asetat-natrium asetat + 0.01% natrium azida yang hanya membutuhkan waktu 30 menit dan 3 siklus saja.

Pada ekstraksi pada *Gracilaria gracilis*, *yield* yang dihasilkan lebih tinggi (7 mg/g dw) dibandingkan *Gelidium pusillum* (2.03 mg/g dw) sekalipun menggunakan waktu dan siklus yang lebih singkat. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan kandungan di setiap spesies dan

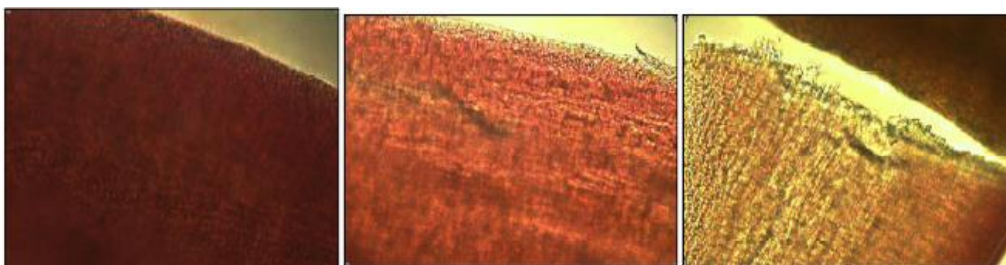
waktu pemanenan yang mungkin berbeda. Francavilla *et al.* (2013) menjelaskan, R-PE yang diekstrak pada bulan Oktober hanya mencapai 3,6 mg/g dw. Bila dibandingkan dengan seluruh metode, metode SE mendapat *yield* yang paling tinggi. Hal ini dikarenakan adanya kerusakan yang paling tinggi pada struktur sel yang dapat dilihat pada Gambar 12 (Mittal *et al.*, 2017).



Gambar 12. Perbandingan Bagian Rumput Laut secara Mikroskopik antara Kontrol/Tanpa Perlakuan (kiri) dan Perlakuan *Serial Extraction* (kanan) (Mittal *et al.*, 2017)

3.1.4. Homogenisasi

Pada metode homogenisasi dilakukan pengadukan dengan kecepatan tertentu setiap menit. Metode ini dapat digunakan sebagai metode ekstraksi yang berdiri sendiri (Tabel 4) maupun kombinasi (Tabel 5). Pada Tabel 4, dapat dilihat bahwa *yield* tertinggi (1,74 mg/g dw) dihasilkan pada *Palmaria palmata* dengan larutan *buffer* asetat dan diaduk selama 6 jam (700 rpm). *Yield* yang baik juga ditunjukkan pada *Gelidium pusillum* (1,29 mg/g dw) dengan larutan *buffer* natrium fosfat selama 45 menit (15.000 rpm) dan *Mastocarpus stellatus* (0,91 mg/g dw) dengan larutan *buffer* fosfat selama 6 jam (15.000 rpm). Perbedaan *yield* dikarenakan adanya perbedaan larutan, waktu, suhu dan pH serta kecepatan pengadukan, tetapi lebih didominasi oleh perlakuan pendahuluan karena sekalipun spesies, metode dan parameter yang sama dapat menghasilkan perbedaan *yield* yang signifikan pada penelitian Dumay *et al.*, (2013). Perbedaan waktu homogenisasi berdampak pada kerusakan bagian rumput laut yang dapat dilihat pada Gambar 13 (Mittal *et al.*, 2017).



Gambar 13. Perbandingan Bagian Rumput Laut secara Mikroskopik antara Perlakuan Kontrol/Tanpa Perlakuan (kiri), Homogenisasi selama 10 Menit (tengah) dan Homogenisasi selama 45 Menit (kanan) (Mittal *et al.*, 2017)

3.1.5. Maserasi pada Nitrogen Cair

Maserasi pada nitrogen cair biasa digunakan sebagai metode pendahuluan ekstraksi. Namun, pada penelitian Mittal *et al.* (2017) maserasi pada nitrogen cair digunakan sebagai metode ekstraksi utama dengan menginkubasi *Gelidium pusillum* selama satu malam pada suhu 4°C, tetapi terjadi penurunan fikobiliprotein, *yield* fikoeritrin yang dihasilkan hanya mencapai 0,54 mg/g dw (Mittal *et al.*, 2017). Sampel segar *Palmaria palmata* pada penelitian Dumay *et al.*, (2013) juga memiliki *yield* lebih rendah daripada sampel yang dihaluskan tanpa nitrogen cair. Hal ini memperlihatkan bahwa metode maserasi pada nitrogen cair tidak efektif bila dilakukan sendiri (Mittal *et al.*, 2017).

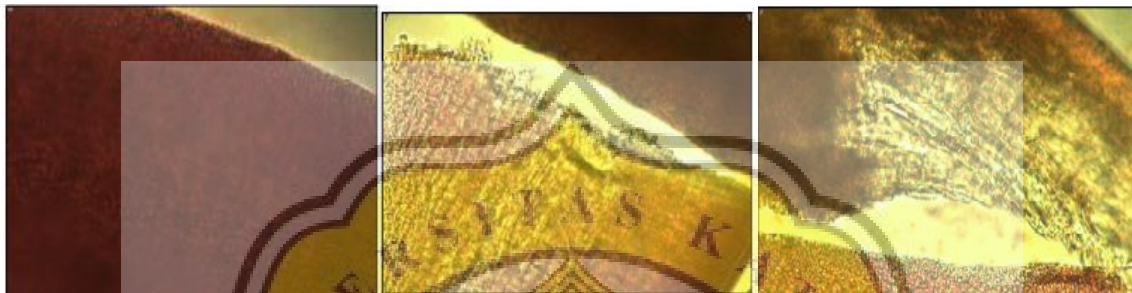
3.1.6. *Ultrasound-assisted Extraction* (UAE)

Ultrasonik dapat digunakan untuk ekstraksi primer (Tabel 4) maupun metode kombinasi (Tabel 5), seperti pada spesies *Gelidium pusillum* (Mittal *et al.*, 2017). Ultrasonik terbukti mampu digunakan sebagai metode ekstraksi fikoeritrin dengan *yield* 0.16 mg/g dw, tetapi dianggap tidak efektif jika dilakukan sendiri karena tidak dapat menghancurkan dinding sel secara optimal (Mittal *et al.*, 2017). Kombinasi metode yang tertera pada Tabel 5 menunjukkan adanya peningkatan *yield*. *Yield* yang didapat dari metode kombinasi antara homogenisasi-ultrasonik mencapai 1.41 mg/g dw dan pada metode kombinasi maserasi dengan ultrasonik mencapai 1.56 mg/g dw (Mittal *et al.*, 2017).

Beberapa parameter seperti amplitudo, waktu, dan suhu dapat memberikan hasil yang berbeda (Mittal *et al.*, 2017). Waktu UAE setidaknya mencapai 4 menit karena sejumlah R-PE baru terdeteksi dan tidak boleh lebih lama dari 10 menit karena akan memicu peningkatan suhu (Mittal *et al.*, 2017). Suhu maksimal pada ekstraksi ini adalah 30°C, tetapi bila waktu melebihi batas akan meningkatkan suhu melebihi 35°C sehingga dapat merusak komponen fikobiliprotein (baik R-PE maupun R-PC) (Mittal *et al.*, 2017). Jika dilihat dari kerusakan pada bagian rumput laut (Gambar 14) ultrasonik memberikan hasil yang baik ketika dikombinasikan dengan metode lain. Kerusakan disebabkan karena efek perubahan tekstur (*detexturation*) ketika gelombang ultrasonik berada dalam bahan yang dimaserasi (Mittal *et al.*, 2017). Kerusakan matriks dinding sel dapat meningkatkan luas permukaan bahan untuk terpapar oleh solven dan meningkatkan hasil ekstraksi fikobiliprotein (Mittal *et al.*, 2017).



Gambar 14. Perbandingan Bagian Rumput Laut secara Mikroskopik antara Kontrol/Tanpa Perlakuan (kiri), Maserasi selama 45 Menit (tengah) dan Maserasi selama 45 Menit & Ultrasonik 10 Menit (kanan) (Mittal *et al.*, 2017)



Gambar 15. Perbandingan Bagian Rumput Laut secara Mikroskopik antara Perlakuan Kontrol/Tanpa Perlakuan (kiri), Homogenisasi selama 45 Menit (tengah) dan Homogenisasi selama 45 Menit & Ultrasonik 10 Menit (kanan) (Mittal *et al.*, 2017)

3.1.7. *Freezing-Thawing*

Metode *freezing* dan *thawing* merupakan metode pembekuan cairan intraseluler dan ekstraksi dengan *buffer* yang mampu memberikan tekanan pada dinding sel, meningkatkan kerusakan dinding sel, memfasilitasi larutnya komponen intraseluler ke dalam larutan *buffer* (Mittal *et al.*, 2017). Pada Tabel 4, dapat dilihat bahwa hasil yang didapatkan relatif bervariasi sekalipun dengan metode yang sama, dikarenakan adanya perbedaan spesies yang digunakan. Perlakuan awal pada metode ekstraksi juga turut mempengaruhi hasil. Perlakuan tersebut membuat sampel lebih mudah diekstrak daripada sampel segar (tanpa perlakuan). Pada alga yang segar (tanpa perlakuan), es kristal baru dapat terbentuk dan berkembang saat pembekuan. Hal itu dapat merusak struktur membran sel dan nutrisi dengan mudah keluar melalui air dan hilang pada proses *thawing* (Nguyen *et al.*, 2016).

Tidak adanya perlakuan awal juga membuat komponen fikobiliprotein tetap utuh di dalam sel dan tidak terlarut ke dalam *buffer* saat ekstraksi (Mittal *et al.*, 2017). Hal ini terbukti dalam penelitian Mittal *et al.* (2017) bahwa *freezing thawing* tidak efektif dalam mengekstrak fikoeritrin dan fikosianin karena tidak mampu memecah matriks kompleks polisakarida yang tersusun pada dinding sel. Perbedaan yang nyata dapat dilihat pada Tabel 4, *yield* yang didapatkan dari *Gelidium pusillum* yang diekstrak tanpa perlakuan pendahuluan hanya

mencapai 0,17 mg/g dw. Sedangkan pada sampel dengan diawali maserasi terlebih dahulu (Tabel 5) memiliki *yield* yang lebih tinggi (0,90 mg/g dw) (Mittal et al., 2017). Dapat dilihat juga pada Tabel 4 hasil ekstraksi pada *Pyropia haitanensis* menunjukkan *yield* yang lebih rendah (1,98 mg/g dw) (Zhao et al., 2019) dibandingkan dengan *Pyropia elongata* karena adanya perlakuan penghalusan terlebih dahulu, disamping perbedaan larutan dan waktu dilakukannya ekstraksi (Sfriso, Gallo, & Baldi, 2018).

Pada penelitian Mittal et al. (2017) dilakukan 10 siklus *freezing-thawing*, tetapi hasil terbaik didapatkan pada siklus ke-7 dan memburuk pada siklus-siklus selanjutnya. Pada siklus ke-7 dinding sel dari rumput laut merah akan rusak dan melepaskan fikobiliprotein dengan maksimal (Mittal et al., 2017). Sedangkan, kandungan fikobiliprotein pada putaran 8-10 mengalami penurunan seperti pada saat maserasi dengan nitrogen cair (Mittal et al., 2017). Hal ini disebabkan adanya fluktuasi suhu berlebih yang mampu merusak komponen fikobiliprotein sehingga jumlah siklus harus dibatasi (Mittal et al., 2017). Sfriso et al. (2018) menyatakan bahwa larutan yang digunakan pada ekstraksi R-PE penting untuk diperhatikan, larutan 1 mM EDTA pada pH 9 dinilai cukup efektif untuk ekstraksi R-PE tetapi tidak dengan R-PC dan APC (Sfriso et al., 2018). Hal ini sesuai dengan *yield* yang didapatkan lebih tinggi daripada pelarut lain pada metode *freezing* dan *thawing* (Tabel 4). Namun, Sfriso et al. (2018) tidak menyertakan informasi mengenai indeks purifikasi pada penelitiannya.

3.1.8. Enzyme-assisted Extraction (EAE)

Pada dasarnya metode enzimatik merupakan metode gabungan antara maserasi dengan penambahan enzim yang dilakukan selama pengadukan. Metode ini banyak digunakan karena enzim mampu mengurangi kandungan polisakarida pada saat ekstraksi protein dan fikoeritrin (R-PE) (Nguyen et al., 2016). Pada penelitian yang dilakukan oleh Nguyen et al. (2016), diamati bahwa kombinasi beberapa perlakuan awal seperti *freeze-drying* dan dihaluskan pada nitrogen cair memberikan efek positif pada metode enzim yang berbeda (*xylanase*, *b-glucanase*, *agarase* dan *cellulase*).

Perbedaan dari enzim yang digunakan didasarkan pada fungsi enzim yang memecah komponen dinding sel yang berbeda. Dinding sel alga merah terdiri dari matriks dinding sel yang kompleks dari selulosa, xilan atau fibril mannan dan galaktan seperti karagenan dan agar (Mittal & Raghavarao, 2018; Gómez-Ordóñez et al., 2010). Enzim xilanase akan mencerna xilan, yang menghasilkan peningkatan paparan selulosa terhadap selulase (Mittal &

Raghavarao, 2018). Oleh karena itu, enzim xilanase memberikan hasil yang optimal pada setiap penelitian seperti yang dilakukan oleh Mittal & Raghavarao (2018), Nguyen *et al.* (2016), Dumay *et al.* (2013) dan peneliti lainnya. Enzim xilanase mampu memberikan hasil terbaik dengan *yield* 1.12 mg/g dw dan indeks purifikasi lebih baik (0,34) daripada enzim selulase (0,74 mg/g dw; $\pm 0,23$) dan b-glukanase (0,94 mg/g dw; $\pm 0,35$) (Nguyen *et al.*, 2016).

Optimalisasi seperti pengontrolan suhu dan pH serta parameter lainnya mampu meningkatkan hasil dari ekstraksi. Kondisi optimal dalam inkubasi enzim dapat dilihat dari periode inkubasi, tingkat enzim, suhu, rasio enzim dengan substrat dan pH (Mittal & Raghavarao, 2018; Nguyen *et al.*, 2016). Suhu optimum yang dimiliki oleh enzim agarase, selulase dan xilanase masing-masing 25°C, 31°C dan 40°C (Mittal & Raghavarao, 2018). Suhu optimal untuk xilanase dan agarase merupakan suhu ekstrem untuk fikobiliprotein karena cukup tinggi sehingga dibutuhkan optimalisasi. Nguyen *et al.* (2016) menyebutkan suhu yang terlalu tinggi mampu mendegradasi R-PE (suhu 50°C atau 60°C mampu mendenaturasi R-PE). Pada ekstraksi *Palmaria palmata* segar dengan suhu 40°C didapatkan *yield* dan indeks purifikasi, masing-masing 3,28 mg/g dw dan 0,14 (Dumay *et al.*, 2013). Sedangkan dengan suhu 24°C didapatkan *yield* dan indeks purifikasi, masing-masing 12,36 mg/g dw dan 0,4 (Dumay *et al.*, 2013). Optimalisasi dengan menurunkan suhu dari 35°C menjadi 12°C dilakukan juga pada ekstraksi untuk sampel *Mastocarpus stellatus* sehingga didapatkan *yield* dan indeks purifikasi yang dihasilkan lebih tinggi dibandingkan 35°C dari 1,12 mg/g dw; 0,34 menjadi 1,99 mg/g dw; 0,36 (Nguyen *et al.*, 2016).

Selain suhu, perbedaan pH juga dapat meningkatkan hasil ekstraksi. Ekstraksi pada sampel *Mastocarpus stellatus* mengubah pH menjadi 6,25 dan hal ini cukup meningkatkan hasil tanpa harus meningkatkan jumlah enzim yang digunakan (Nguyen *et al.*, 2016). Sedangkan pada *Palmaria palmata* tidak ada perubahan pH tetapi terdapat peningkatan jumlah enzim karena menurut produsen enzim yang digunakan, aktivitas enzimatik tertinggi diperoleh pada 40°C dan pH 5 (Dumay *et al.*, 2013). Sekalipun Nguyen *et al.* (2016) berpendapat bahwa faktor pH berpengaruh lebih kuat dibandingkan faktor lain, tetapi ia juga mengungkapkan bahwa suhu dan rasio enzim-substrat juga berpengaruh satu sama lain. Sehingga, setiap parameter memiliki pengaruh tertentu terhadap respon (Nguyen *et al.*, 2016). Hasil ini diperoleh menunjukkan bahwa jumlah xilanase, waktu dan suhu inkubasi, mampu menghasilkan peningkatan yang signifikan dalam hasil R-PE (Mittal & Raghavarao, 2018).

Tabel 4. Yield dan Indeks Purifikasi Fikoeritrin pada Alga Merah dengan Berbagai Metode Ekstraksi

No	Spesies	Pre-treatment	Parameter				Yield	Indeks Purifikasi	Referensi	
			Solven	Suhu°C	pH	Waktu				Sentrifugasi
Maserasi										
1	<i>Centroceras clavulatum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Disimpan (-80°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat	4	7,4	-	20.000 x g 20 menit	0,202 mg/g	1,01	(Nair <i>et al.</i> , 2018)
2	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat	4	6,8	45 menit	15.000 x g 12 menit	1,19 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
3	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) Disimpan (-20°C) Dikeringkan beku (lyophilized) 	20 mM <i>buffer</i> fosfat	4	7,1	20 menit	25.000 x g 20 menit	0,27 mg/g dw	0,14	(Nguyen <i>et al.</i> , 2018)
4	<i>Grateloupia turuturu</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) Disimpan (-20°C) Dikeringkan beku (lyophilized) Dihaluskan (ground) 	20 mM <i>buffer</i> fosfat	4	7,1	20 menit	25.000 x 20 menit	5,28 mg/g dw	0,41	(Munier <i>et al.</i> , 2015)
5	<i>Gracilaria gracilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) Disimpan (-20°C) Dikeringkan beku (lyophilized) 	20 mM <i>buffer</i> fosfat	4	7,1	20 menit	25.000 x g 20 menit	1,26 mg/g dw	0,29	(Nguyen <i>et al.</i> , 2019)

6	<i>Gracilaria chilensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dibungkus <i>aluminium foil</i> Dibekukan dalam nitrogen cair Disimpan (-80°C) 	Buffer fosfat	-	6,8	-	5.000 x g 10-15 menit	1,26 mg/g dw (Ancud)		(Usandizaga <i>et al.</i> , 2018)
7	<i>Gracilaria chilensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dibungkus <i>aluminium foil</i> Dibekukan dalam nitrogen cair Disimpan (-80°C) 	Buffer fosfat	-	6,8	-	5.000 x g 10-15 menit	1,46 mg/g dw (Chaica)		(Usandizaga <i>et al.</i> , 2018)
8	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	Air distilasi	Suhu ruang	7	-	10.000 x g 20 menit	0,50 mg/g fw	0,2	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
9	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	10 mM buffer fosfat	Suhu ruang	6,8	-	10.000 x g 20 menit	0,37 mg/g fw	0,23	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
10	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	Air laut	Suhu ruang	8,13	-	10.000 x g 20 menit	0,36 mg/g fw	0,3	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
11	<i>Polysiphonia urceolata</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut) Disimpan (-20°C) 	Air distilasi	4	-	24 jam	10.000 x g 10 menit	1,57 mg/g fw	0,52	(Niu <i>et al.</i> , 2006)
12	<i>Acanthophora spicifera</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut) Dikultivasi di laboratorium Maserasi dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	50 mM buffer fosfat	4	6,4	20 menit	2.000 x g 20 menit	206,94 µg/g dw		(Pereira <i>et al.</i> , 2017)

Ekstraksi serial

1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat (5 siklus)	4	6,8	60 menit	15.000 x g 12 menit	2,03 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
2	<i>Gracilaria gracilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan (<i>ground</i>) dengan alumina Diayak Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	5	5,5	30 menit	15.000 x g 20 menit	7 mg/g dw (January)	-	(Francavilla <i>et al.</i> , 2013)
3	<i>Gracilaria gracilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan (<i>ground</i>) dengan alumina Diayak Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	5	5,5	30 menit	15.000 x g 20 menit	3,6 mg/g dw (Oktober)	-	(Francavilla <i>et al.</i> , 2013)
4	<i>Gracilaria changii</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	-	5,5	20 menit	13.500 x g 5 menit	18,57 µg/mL	-	(Rubi <i>et al.</i> , 2019)
5	<i>Gracilaria changii</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	-	5,5	20 menit	13.500 x g 7 menit	5,55 µg/mL	-	(Rubi <i>et al.</i> , 2019)

- Disimpan (20°C)

Homogenisasi

1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) • Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat	< 35	6,8	45 menit (15.000 rpm)	15.000 x g 12 menit	1,29 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
2	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dikeringkan beku (lyophilized) • Dipotong (cut) 	50 mM <i>buffer</i> Asetat	40	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	±0,1 mg/g dw*	±0,13*	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
3	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dikeringkan beku (lyophilized) • Dihaluskan(ground) 	50 mM <i>buffer</i> Asetat	40	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	0,11 mg/g dw	±0,01*	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
4	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dikeringkan beku (lyophilized) • Dihaluskan dalam nitrogen cair (cryoground) 	50 mM <i>buffer</i> Asetat	40	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	1,74 mg/g dw	±0,19*	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
5	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dipotong (cut) 	50 mM <i>buffer</i> Asetat	40	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	0,2 mg/g dw	0,3	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)

6	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) Dihaluskan (<i>ground</i>) 	50 mM <i>buffer</i> Asetat	40	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	±0,9 mg/g dw*	±0,048*	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
7	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	50 mM <i>buffer</i> Asetat	40	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	±0,65 mg/g dw*	±0,038*	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
8	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	20 mM <i>buffer</i> Fosfat	4	7,1	360 menit (15.000 rpm)	25.000 x g 20 menit	0,91 mg/g dw	0,35	(Nguyen <i>et al.</i> , 2016)
9	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dipotong (<i>cut</i>) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	20 mM <i>buffer</i> Fosfat	4	7,1	360 menit (15.000 rpm)	25.000 x g 20 menit	0,32 mg/g dw	0,06	(Nguyen <i>et al.</i> , 2016)
Maserasi dalam Nitrogen Cair										
1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Fosfat	4		1 malam		0,54 mg/g dw		(Mittal <i>et al.</i> , 2017)

Ultrasound-assisted Extraction (UAE)

1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Fosfat	30	6,8	10 menit	Amplitudo UAE (120 µm)	0,16 mg/g dw	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
---	--------------------------	---	----------------------------	----	-----	----------	------------------------	--------------	-------------------------------

Freezing dan Thawing

1	<i>Pyropia haitanensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut) Disimpan (20°C) 	Air distilasi (2 siklus)	-20 (freeze) ; 4 (thawing)	-	-	-	1,98 mg/g dw	0,55	(Zhao <i>et al.</i> , 2019)
2	<i>Halymenia floresia</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air biasa dan air distilasi) Disimpan (-20°C) 	50 mM <i>buffer</i> Fosfat (2 siklus)	4	7	15 menit	12.000 x g 15 menit	13,6 mg/ml	1,5	(Malairaj <i>et al.</i> , 2016)
3	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Fosfat (10 siklus)	-40 (freeze) ; 27 (thawing)	6,8	180 menit (freeze), 60 menit (thawing)	-	0,17 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
4	<i>Gelidium pusillum</i>	-	20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,403 mg/g fw	-	(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
5	<i>Acanthophora spicifera</i>	-	20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,421 mg/g fw	-	(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
6	<i>Gracilaria corticata</i>	-	20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,781 mg/g fw	-	(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
7	<i>Gracilaria edulis</i>	-	20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,762 mg/g fw	-	(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)

8	<i>Gracilaria salicornia</i>		20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,573 mg/g fw		(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
9	<i>Gelidiella acerosa</i>		20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,545 mg/g fw		(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
10	<i>Hypnea esperi</i>		20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,416 mg/g fw		(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
11	<i>Laurencia papillosa</i>		20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,182 mg/g fw		(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
12	<i>Portieria hornemannii</i>		20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	1,232 mg/g fw	0,69	(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
13	<i>Sarconema filiforme</i>		20 mM <i>buffer</i> Fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,397 mg/g fw		(Senthilku mar <i>et al.</i> , 2013)
14	<i>Pyropia elongata</i>	• Dihaluskan	1 mM EDTA	4	9	1 malam	14.000 x g 10 menit	±3,025 mg/g dw*		(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
15	<i>Agardhiella subulata</i>	• Dihaluskan	1 mM EDTA	4	9	1 malam	14.000 x g 10 menit	±2,3 mg/g dw*		(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
16	<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	• Dihaluskan	1 mM EDTA	4	9	1 malam	14.000 x g 10 menit	±1,2 mg/g dw*		(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
17	<i>Gracilariopsis longissima</i>	• Dihaluskan	1 mM EDTA	4	9	1 malam	14.000 x g 10 menit	±1,5 mg/g dw*		(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
18	<i>Polysiphonia morrowii</i>	• Dihaluskan	1 mM EDTA	4	9	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,68 mg/g dw*		(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)

Keterangan

- * = Diperkirakan berdasarkan pendekatan pada grafik yang dilaporkan
dw = Dry weight (berat kering)
fw = Fresh weight (berat basah)

Tabel 5. Yield dan Indeks Purifikasi Fikoeritrin pada Alga Merah dengan Kombinasi Metode Ekstraksi

No	Spesies	Pre-treatment	Metode 1	Metode 2	Parameter					Yield	Indeks Purifikasi	Referensi
					Solven	Suhu	pH	Waktu	Sentrifugasi			
1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	Maserasi	Freeze dan thawing (10 siklus)	10 mM buffer fosfat	Maserasi (4°C); Freezing (-40°C); Thawing (27°C)	6,8	Maserasi (45 menit)	15.000 x g 12 menit	0,90 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
2	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	Maserasi	UAE (A 120 µm)	10 mM buffer fosfat	Maserasi (4°C); UAE (30°C)	6,8	Maserasi (45 menit); UAE (10 menit)	15.000 x g 12 menit	1,56 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
3	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	Homogenisasi 15.000 RPM	UAE (A 120 µm)	10 mM buffer fosfat	Homogenisasi (<35°C); UAE (30°C)	6,8	Homogenisasi (45 menit); UAE (10 menit)	15.000 x g 12 menit	1,41 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
4	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	Maserasi	EAE Xylanase 16,5 mg/g dw	Maserasi (20 mM buffer fosfat); EAE (50mM buffer asetat)	Maserasi (4°C); EAE (35°C)	7,1 ; 5	Maserasi (20 menit); EAE (360 menit (15.000 rpm))	25.000 x g 20 menit	1,12 mg/g dw	0,34	(Nguyen <i>et al.</i> , 2016)
5	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	Maserasi	EAE Cellulase 16,5 mg/g dw	Maserasi (20 mM buffer fosfat); EAE (50mM buffer asetat)	Maserasi (4°C); EAE (35°C)	7,1 ; 5	Maserasi (20 menit); EAE (360 menit (15.000 rpm))	25.000 x g 20 menit	0,74 mg/g dw	±0,23*	(Nguyen <i>et al.</i> , 2016)

6	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	Maserasi	EAE - <i>glucanase</i> 16,5 mg/g dw	Maserasi (20 mM <i>buffer</i> fosfat); EAE (50mM <i>buffer</i> asetat)	Maserasi (4°C); EAE (35°C)	7,1 ; 5	Maserasi (20 menit); EAE (360 menit (15.000 rpm))	25.000 x g 20 menit	0,94 mg/g dw	±0,35*	(Nguyen et al., 2016)
7	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	Maserasi	EAE <i>Xylanase</i> 13,18 mg/g	Maserasi (20 mM <i>buffer</i> fosfat); EAE (50mM <i>buffer</i> asetat)	Maserasi (4°C); EAE (12°C)	7,1 ; 6,4 5	Maserasi (20 menit); EAE (360 menit (15.000 rpm))	25.000 x g 20 menit	1,99 mg/g dw	0,36	(Nguyen et al., 2016)
8	<i>Mastocarpus stellatus</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dipotong (<i>cut</i>) Dihaluskan dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	Maserasi	EAE <i>Xylanase</i> 16,5 mg/g dw	Maserasi (20 mM <i>buffer</i> fosfat); EAE (50mM <i>buffer</i> asetat)	Maserasi (4°C); EAE (35°C)	7,1 ; 5	Maserasi (20 menit); EAE (360 menit (15.000 rpm))	25.000 x g 20 menit	0,36 mg/g dw	0,09	(Nguyen et al., 2016)
9	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dipotong (<i>cut</i>) Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) 	Homogenisasi	EAE <i>Xylanase</i> 16,5 mg/g dw	EAE (50mM <i>buffer</i> asetat)	EAE (40°C)	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	±3,05 mg/g dw	±0,3*	(Dumay et al., 2013)
10	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) 	Homogenisasi	EAE <i>Xylanase</i> 16,5 mg/g dw	EAE (50mM <i>buffer</i> asetat)	EAE (40°C)	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	1,15 mg/g dw	0,12	(Dumay et al., 2013)

11	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dihaluskan (ground) • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dikeringkan beku (lyophilized) • Dihaluskan dalam nitrogen cair (cryoground) 	Homogenisasi	EAE Xylanase 16,5 mg/g dw	EAE (50mM buffer asetat)	EAE (40°C)	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	±3,8 mg/g dw*	0,3	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
12	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dipotong (cut) 	Homogenisasi	EAE Xylanase 16,5 mg/g dw	EAE (50mM buffer asetat)	EAE (40°C)	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	3,28 mg/g dw	0,14	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
13	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dipotong (cut) 	Homogenisasi	EAE Xylanase 17,8 mg/g dw	EAE (50mM buffer asetat)	EAE (24°C)	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	12,36 mg/g dw	0,4	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
14	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dihaluskan (ground) 	Homogenisasi	EAE Xylanase 16,5 mg/g dw	EAE (50mM buffer asetat)	EAE (40°C)	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	4,36 mg/g dw	±0,19*	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)
15	<i>Palmaria palmata</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut, air biasa dan air distilasi) • Dihaluskan dalam nitrogen cair (cryoground) 	Homogenisasi	EAE Xylanase 16,5 mg/g dw	EAE (50mM buffer asetat)	EAE (40°C)	5	360 menit (700 rpm)	25.000 x g 20 menit	±3,65 mg/g dw*	±0,23*	(Dumay <i>et al.</i> , 2013)

Keterangan

- * = Diperkirakan berdasarkan pendekatan pada grafik yang dilaporkan
dw = *Dry weight* (berat kering)
fw = *Fresh weight* (berat basah)
A = Amplitudo

3.2. Fikosianin

Pada Tabel 6 dan Tabel 7, dapat diketahui bahwa publikasi tentang ekstraksi fikosianin dan alofikosianin tidak dilakukan sebanyak fikosieritrin. Hal ini dikarenakan jumlah tersebut dalam rumput laut merah tidak sebanyak fikosianin (Nguyen *et al.*, 2016). Beberapa spesies yang digunakan dalam ekstraksi fikosianin adalah *Centroceras clavulatum*, *Gelidium pusillum*, *Gracilaria chilensis*, *Gracilaria gracilis*, *Gracilaria crassa*, *Gracilaria changii*, *Gracilaria corticata*, *Gracilaria edulis*, *Gracilaria salicornia*, *Acanthophora spicifera*, *Mastocarpus stellatus*, *Gelidiella acerosa*, *Hypnea esperi*, *Laurencia papillosa*, *Portieria hornemannii*, *Sarconema filiforme*, *Pyropia elongata*, *Agardhiella subulata*, *Gracilaria vermiculophylla*, *Gracilariopsis longissima*, dan *Polysiphonia morrowii*. Metode yang digunakan pada ekstraksi fikosianin berupa maserasi, ekstraksi serial, homogenisasi, UAE dan freezing-thawing.

Pada Tabel 6, dapat diketahui bahwa *yield* dari ekstraksi fikosianin yang dilakukan dengan maserasi berkisar 110,15 µg/g dw hingga 0,81 mg/g dw. Beberapa parameter seperti lamanya sentrifugasi, suhu dan perlakuan pendahuluan turut mempengaruhi. *Yield* pada sampel *Gelidium pusillum* mencapai 0,81 mg/g dw dengan perendaman pada larutan buffer natrium fosfat hingga 45 menit dan sentrifugasi 15.000 x g sampel selama 12 menit (Mittal *et al.*, 2017). Pada *Gracilaria chilensis* juga dilakukan metode yang sama tetapi dilanjutkan dengan sentrifugasi yang lebih singkat sehingga menghasilkan *yield* yang lebih rendah (0,70 mg/g dw) tetapi tidak signifikan dikarenakan adanya perlakuan pendahuluan berupa pembekuan dalam nitrogen cair (Usandizaga *et al.*, 2018). Sedangkan pada sampel *Gracilaria crassa*, *yield* yang dihasilkan hanya berkisar 0,14 mg/g fw – 0,28 mg/g fw, hal ini dikarenakan ekstraksi dilakukan di suhu ruang. Rossano *et al.* (2003) menyatakan bahwa pada suhu 20°C stabilitas fikobiliprotein tidak berada dalam fase yang baik. Hasil yang tidak optimal juga diperlihatkan pada sampel *Acanthophora spicifera* (110,15 µg/g dw), dikarenakan ekstraksi tidak dilakukan saat sampel berada pada kondisi segar tetapi dilakukan setelah dikultivasi dan diamati berdasarkan salinitas air di laboratorium (Pereira *et al.*, 2017).

Metode homogenisasi menghasilkan *yield* yang lebih tinggi daripada metode maserasi. *Yield* tertinggi didapatkan pada *Mastocarpus stellatus* (0,91 mg/g dw) dengan indeks purifikasi 0,35. Sedangkan pada *Gelidium pusillum* didapatkan *yield* (0,80 mg/g dw). Hal ini dikarenakan perbedaan parameter metode. Pada *Mastocarpus stellatus* dilakukan homogenisasi dengan konsentrasi larutan yang lebih tinggi, waktu yang lebih lama, dan sentrifugasi yang lebih lama juga dibandingkan *Gelidium pusillum*. Selain itu juga dilakukan perlakuan pendahuluan berupa

pengeringan beku, penghalusan, pengayakan dan *cryoground*. Gu *et al.* (2018) menyatakan bahwa kerusakan sel yang tinggi akan menyebabkan *yield* lebih tinggi dikarenakan fikobiliprotein merupakan protein intraseluler yang larut dalam air.

Pada metode maserasi dengan nitrogen cair dan UAE hanya mampu menghasilkan fikosianin 0,23 mg/g dw dan 0,11 mg/g dw. Hasil ini lebih sedikit dibandingkan metode lainnya. Mittal *et al.* (2017) menyatakan bahwa UAE dan maserasi dalam nitrogen bukan metode ekstraksi primer yang efektif. Untuk memaksimalkan *yield* yang didapatkan dibutuhkan kombinasi dengan metode lain.

Pada ekstraksi fikosianin dengan metode *freezing-thawing*, *yield* tertinggi didapatkan pada sampel *Pyropia elongata* ($\pm 1,475$ mg/g dw*) sedangkan pada spesies lain didapatkan *yield* lebih rendah sekalipun diproses dengan metode yang sama (Sfriso *et al.*, 2018). Hal ini disebabkan perbedaan kandungan pada masing-masing spesies. Sementara, *yield* yang didapatkan lebih kecil pada penelitian dengan sampel *Laurencia papillosa* dan *Gelidium pusillum*, masing-masing sebesar 0,36 mg/g fw dan 0,29 mg/g dw. Pada sampel *Laurencia papillosa*, metode yang digunakan tidak dijelaskan secara rinci, tetapi kemungkinan ekstraksi ini dilakukan dengan waktu yang lebih singkat karena digunakan konsentrasi larutan yang lebih besar. Namun, terdapat 10 siklus yang mampu merusak struktur fikobiliprotein pada sampel *Gelidium pusillum* sehingga waktu yang diperlukan lebih singkat (Mittal *et al.*, 2017).

Berdasarkan Tabel 6, dapat dilihat bahwa metode ekstraksi serial memberikan hasil terbaik. Pada metode ini dengan larutan *buffer* asam asetat-natrium asetat dan 0.01% natrium, *yield* yang dihasilkan dari *Gracilaria gracilis* mencapai 3 mg/g dw dengan waktu ekstraksi 30 menit sebanyak 3 siklus. Hasil ini lebih baik dibandingkan ekstraksi pada *Gelidium pusillum* yang dilakukan lebih lama sebanyak 5 siklus dengan larutan *buffer* natrium fosfat. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan larutan *buffer* yang digunakan. Namun, penelitian yang dilakukan oleh Rubi *et al.* (2019) menghasilkan *yield* sangat kecil sekalipun menggunakan larutan yang sama. Hal ini disebabkan karena waktu yang digunakan 20 menit serta kecepatan dan waktu sentrifugasi yang lebih singkat. Hal ini memperlihatkan bahwa masing-masing *buffer* memiliki kondisi optimalnya masing-masing.

Tabel 6. Yield dan Indeks Purifikasi Fikosianin pada Alga Merah dengan Berbagai Metode Ekstraksi

No	Spesies	Pre-treatment	Parameter				Yield	Indeks Purifikasi	Referensi	
			Solven	Suhu	pH	Waktu				Sentrifugasi
Maserasi										
1	<i>Centroceras clavulatum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Disimpan (-80°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat	4	7,4	-	20.000 x g 20 menit	0,077 mg/g	0,337	(Nair <i>et al.</i> , 2018)
2	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat	4	6,8	45 menit	15.000 x g 12 menit	0,81 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
3	<i>Gracilaria chilensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dibungkus aluminium foil Dibekukan dalam nitrogen cair Disimpan (-80°C) 	Larutan <i>buffer</i> fosfat	-	6,8	-	5.000 x g 10-15 menit	0,70 mg/g dw (Ancud)	-	(Usandizaga <i>et al.</i> , 2018)
4	<i>Gracilaria chilensis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dibungkus aluminium foil Dibekukan dalam nitrogen cair Disimpan (-80°C) 	Larutan <i>buffer</i> fosfat	-	6,8	-	5.000 x g 10-15 menit	0,73 mg/g dw (Chaica)	-	(Usandizaga <i>et al.</i> , 2018)
5	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	Air distilasi	Suhu ruang	7	-	10.000 x g 20 menit	0,28 mg/g fw	0,09	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)

6	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	10 mM <i>buffer</i> fosfat	Suhu ruang	6,8	-	10.000 x g 20 menit	0,25 mg/g fw	0,11	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
7	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	Air laut	Suhu ruang	8,1	-	10.000 x g 20 menit	0,14 mg/g fw	0,1	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
8	<i>Acanthophora spicifera</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut) Dikultivasi di laboratorium Maserasi dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	50 mM <i>buffer</i> fosfat	4	6,4	20 menit	2.000 x g 20 menit	110,15 µg/g dw (20 psu)		(Pereira <i>et al.</i> , 2017)
Ekstraksi serial										
1	<i>Gelidium Pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat (5 siklus)	4	6,8	60 menit	15.000 x g 12 menit	1,28 mg/g dw	-	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
2	<i>Gracilaria gracilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan (<i>ground</i>) dengan alumina Diayak Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	5	5,5	30 menit	15.000 x g 20 menit	3 mg/g dw (January)		(Francavilla <i>et al.</i> , 2013)
3	<i>Gracilaria gracilis</i>		1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01%	5	5,5	30 menit	15.000 x g 20 menit	0,7 mg/g dw (October)		(Francavilla <i>et al.</i> , 2013)

		<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air distilasi steril) • Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) • Dihaluskan (<i>ground</i>) dengan alumina • Diayak • Disimpan (20°C) 	Natrium azida (3 siklus)						
4	<i>Gracilaria changii</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air distilasi) • Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) • Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	-	5,5	20 menit	13.500 x g 5 menit	13,31 µg/mL	(Rubi <i>et al.</i> , 2019)
5	<i>Gracilaria changii</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air distilasi) • Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) • Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	-	5,5	20 menit	13.500 x g 7 menit	8,20 µg/mL	(Rubi <i>et al.</i> , 2019)
Homogenisasi									
1	<i>Gelidium Pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) • Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer</i> Natrium fosfat	< 35	6,8	45 menit (15.000 rpm)	15.000 x g 12 menit	0,80 mg/g dw	- (Mittal <i>et al.</i> , 2017)

Maserasi dalam Nitrogen Cair

1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer fosfat</i>	4		1 malam		0,34 mg/g dw	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
UAE									
1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer fosfat</i>	30	6,8	10 menit	Amplitudo UAE (120µmeter)	0,11 mg/g dw	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
Freezing dan Thawing									
1	<i>Gelidium pusillum</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut yang sudah difiltrasi) Disimpan (-40°C) 	10 mM <i>buffer fosfat</i> (10 siklus)	-40 (freeze) 27 (thawing)	6,8	180min (freeze), 60min (thawing)	-	0,29 mg/g dw	(Mittal <i>et al.</i> , 2017)
2	<i>Gelidium pusillum</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,18 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
3	<i>Acanthophora spicifera</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,34 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
4	<i>Gracilaria corticata</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,32 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
5	<i>Gracilaria edulis</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,33 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
6	<i>Gracilaria salicornia</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,23 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
7	<i>Gelidiella acerosa</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2	-	12.500 x g 15 menit	0,19 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)

8	<i>Hypnea esperi</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,18 mg/g fw	(Senthikumar <i>et al.</i> , 2013)
9	<i>Laurencia papillosa</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,36 mg/g fw	(Senthikumar <i>et al.</i> , 2013)
10	<i>Portieria hornemannii</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,20 mg/g fw	(Senthikumar <i>et al.</i> , 2013)
11	<i>Sarconema filiforme</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,19 mg/g fw	(Senthikumar <i>et al.</i> , 2013)
12	<i>Pyropia elongata</i>	• Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±1,475 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
13	<i>Agardhiella subulata</i>	• Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,47 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
14	<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	• Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,7 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
15	<i>Gracilariopsis longissima</i>	• Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,3 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
16	<i>Polysiphonia morrowii</i>	• Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,25 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)

Keterangan

- * = Diperkirakan berdasarkan pendekatan pada grafik yang dilaporkan
dw = *Dry weight* (berat kering)
fw = *Fresh weight* (berat basah)

3.3. Alofikosianin

Pada ekstraksi alofikosianin, beberapa spesies yang digunakan adalah *Gelidium pusillum*, *Gracilaria crassa*, *Gracilaria changii*, *Gracilaria corticata*, *Gracilaria edulis*, *Gracilaria salicornia*, *Acanthophora spicifera*, *Gelidiella acerosa*, *Hypnea esperi*, *Laurencia papillosa*, *Portieria hornemannii*, *Sarconema filiforme*, *Pyropia elongata*, *Agardhiella subulata*, *Gracilaria vermiculophylla*, *Gracilariopsis longissima*, dan *Polysiphonia morrowii*. Metode ekstraksi yang digunakan hanya maserasi, ekstraksi serial, dan freezing-thawing. Ekstraksi alofikosianin lebih sedikit dilakukan dibandingkan dengan ekstraksi fikosianin dan fikoeritrin.

Pada Tabel 7, dapat diketahui bahwa *yield* dari ekstraksi alofikosianin dengan metode maserasi berkisar 92,56 µg/g dw hingga 0,34 mg/g dw. *Yield* tertinggi (0,34 mg/g dw) didapatkan dari sampel *Gracilaria crassa* dengan pelarut berupa air distilasi pada suhu ruang dan pH 7 dipengaruhi oleh larutan yang digunakan. Pada larutan *buffer* fosfat didapatkan indeks purifikasi yang lebih tinggi, walau *yield* yang didapatkan lebih rendah. Sementara, maserasi yang dilakukan pada suhu ruang memiliki *yield* yang lebih optimal. Pada sampel *Acanthophora spicifera*, *yield* yang dihasilkan cukup rendah dikarenakan ekstraksi tidak dilakukan pada kondisi segar tetapi dilakukan setelah dikultivasi dengan salinitas air yang berbeda di laboratorium (Pereira *et al.*, 2017). Dapat dilihat juga, metode ekstraksi serial memberikan *yield* tertinggi. Pada metode ini, *yield* yang dihasilkan dari *Gracilaria gracilis* dapat mencapai 3,5 mg/g dw dengan maserasi berulang selama 30 menit sebanyak 3 siklus dan dikondisikan pada suhu 5°C dan pH 5,5. Perlakuan pendahuluan juga membantu dalam meningkatkan *yield*. Hasil dari Rubi *et al.* (2019), *yield* yang dihasilkan sangat kecil. Hal ini disebabkan karena waktu maserasi dan sentrifugasi yang digunakan lebih singkat.

Pada metode freezing-thawing, *yield* tertinggi didapatkan pada sampel *Gracilaria vermiculophylla* ($\pm 0,48$ mg/g dw*) dalam penelitian Sfriso *et al.* (2018). Beberapa sampel lain menghasilkan *yield* yang lebih kecil walaupun dengan metode yang sama. Hal ini disebabkan karena kandungan setiap spesies berbeda, dapat dilihat kandungan alofikosianin tertinggi berbeda dengan spesies yang mengandung fikoeritrin (Tabel 4) dan fikosianin (Tabel 6). Apabila *yield* *Acanthophora spicifera* (0,121 mg/g fw) dibandingkan dengan *Gracilaria vermiculophylla* ($\pm 0,48$ mg/g dw*) maka *Gracilaria vermiculophylla* memiliki *yield* yang lebih tinggi karena diekstraksi dengan waktu yang lebih lama (1 malam) dengan perlakuan pendahuluan berupa penghalusan terlebih dahulu.

Tabel 7. Yield dan Indeks Purifikasi Alokosianin pada Alga Merah dengan Berbagai Metode Ekstraksi

No	Spesies	Pre-treatment	Parameter				Yield	Indeks Purifikasi	Referensi	
			Solven	Suhu	pH	Waktu				Sentrifugasi
Maserasi										
1	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	Air distilasi	Suhu ruang	7	-	10.000 x g 20 menit	0,34 mg/g fw	0,07	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
2	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	10 mM buffer fosfat	Suhu ruang	6,8	-	10.000 x g 20 menit	0,27mg/g fw	0,09	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
3	<i>Gracilaria crassa</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Disimpan (4°C) 	Air laut	Suhu ruang	8,13	-	10.000 x g 20 menit	0,18 mg/g dw	0,09	(Sudhakar <i>et al.</i> , 2015)
4	<i>Acanthophora spicifera</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air laut) Dikultivasi di laboratorium Maserasi dalam nitrogen cair (<i>cryoground</i>) 	50 mM buffer fosfat	4	6,4	20 menit	2.000 x g 20 menit	92,56 µg/g dw (15psu)		(Pereira <i>et al.</i> , 2017)
Ekstraksi serial										
1	<i>Gracilaria gracilis</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi steril) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Dihaluskan (<i>ground</i>) dengan alumina Diayak Disimpan (20°C) 	1 M buffer Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	5	5,5	30 menit	15.000 x g 20 menit	3,5 mg/g dw		(Francavilla <i>et al.</i> , 2013)

2	<i>Gracilaria changii</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	-	5,5	20 menit	13.500 x g 5 menit	20,37 µg/mL	(Rubi <i>et al.</i> , 2019)
3	<i>Gracilaria changii</i>	<ul style="list-style-type: none"> Dicuci (air distilasi) Dikeringkan beku (<i>lyophilized</i>) Disimpan (20°C) 	1 M <i>buffer</i> Asam asetat-natrium asetat + 0.01% Natrium azida (3 siklus)	-	5,5	20 menit	13.500 x g 7 menit	7,62 µg/mL	(Rubi <i>et al.</i> , 2019)
Freezing dan Thawing									
1	<i>Gelidium pusillum</i>	-	20 mM <i>buffer</i> fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,085 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
2	<i>Acanthophora spicifera</i>	-	20 mM <i>buffer</i> fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,121 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
3	<i>Gracilaria corticata</i>	-	20 mM <i>buffer</i> fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,092 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
4	<i>Gracilaria edulis</i>	-	20 mM <i>buffer</i> fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,081 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
5	<i>Gracilaria salicornia</i>	-	20 mM <i>buffer</i> fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,074 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)
6	<i>Gelidiella acerosa</i>	-	20 mM <i>buffer</i> fosfat (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,062 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)

7	<i>Hypnea esperi</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,046 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)	
8	<i>Laurencia papillosa</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,043 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)	
9	<i>Portieria hornemannii</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,061 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)	
10	<i>Sarconema filiforme</i>	-	20 mM <i>buffer fosfat</i> (3 siklus)	-	7,2		12.500 x g 15 menit	0,056 mg/g fw	(Senthilkumar <i>et al.</i> , 2013)	
11	<i>Pyropia elongata</i>	•	Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,45 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
12	<i>Agardhiella subulata</i>	•	Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,4 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
13	<i>Gracilaria vermiculophylla</i>	•	Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,48 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
14	<i>Gracilariopsis longissima</i>	•	Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,33 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)
15	<i>Polysiphonia morrowii</i>	•	Dihaluskan	1 mM <i>buffer fosfat</i>	4	6-7	1 malam	14.000 x g 10 menit	±0,05 mg/g dw*	(Sfriso <i>et al.</i> , 2018)

Keterangan

- * = Diukur berdasarkan grafik yang tertera pada jurnal
dw = *Dry weight* (berat kering)
fw = *Fresh weight* (berat basah)

3.3.1. Faktor-faktor lain yang mempengaruhi

3.3.1.1. Suhu, pH dan Cahaya

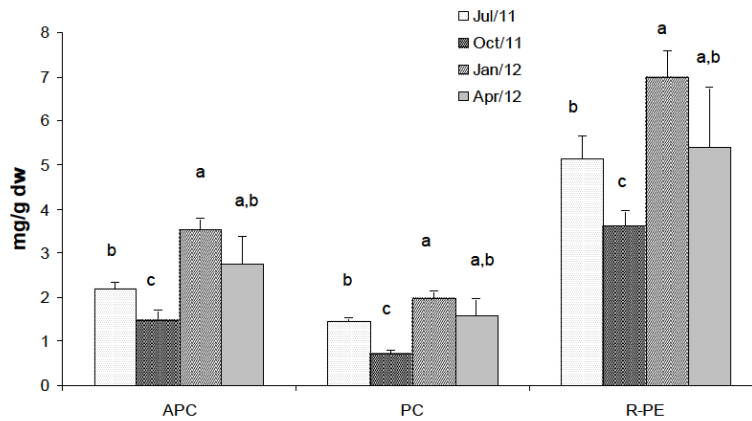
Suhu dan cahaya merupakan faktor terpenting untuk diperhatikan karena fikobiliprotein tidak tahan terhadap panas sehingga proses dan penyimpanan disarankan pada suhu 4°C karena rumput laut menunjukkan stabilitas terbesar, sedangkan suhu 20°C menunjukkan stabilitas terburuk dalam penyimpanan (Rossano *et al.*, 2003). Lalu cahaya mampu meningkatkan kecenderungan kehilangan kromofor fikoeritrin (Rossano *et al.*, 2003). Fikoeritrin akan stabil pada pH berkisar 6 hingga 8.5 dan akan menunjukkan penurunan pada A566 di pH yang rendah (Rossano *et al.*, 2003).

3.3.1.2. Kecepatan Sentrifugasi

Berdasarkan Tabel 4, dapat diketahui bahwa kecepatan dan lamanya waktu yang dibutuhkan dalam sentrifugasi supernatan juga cukup mempengaruhi *yield* walau tidak secara signifikan pada ekstraksi fikoeritrin dari *Gracilaria changii*. Hal ini dikarenakan panas mampu terakumulasi dalam waktu yang lama sehingga mampu merusak kandungan fikobiliprotein itu sendiri (Rubi *et al.*, 2019). Oleh karena itu, diperlukan standar waktu dalam sentrifugasi yang efektif dalam melepas fikobiliprotein tanpa merusak komponen tersebut (Rubi *et al.*, 2019). Dalam penelitian yang dilakukan oleh Rubi *et al.* (2019), waktu terbaik dilakukannya sentrifugasi adalah 5 menit karena pada durasi 7 menit *yield* fikobiliprotein menurun karena rusak. Namun pada penelitian lain, menunjukkan ekstraksi pada *Gracilaria gracilis* dengan kecepatan dan waktu sentrifugasi yang lebih tinggi (15.000 x g selama 20 menit) tetap menghasilkan *yield* yang lebih tinggi (7 mg/g dw) sekalipun menggunakan solven yang sama dengan metode ekstraksi serial 3x putaran (Francavilla *et al.*, 2013). Dumay *et al.*, (2015) juga menyatakan bahwa setidaknya sentrifugasi dilakukan pada 25.000 x g selama 30 menit untuk pemulihan supernatan.

3.3.1.3. Faktor Lingkungan

Hal lain yang cukup mempengaruhi *yield* dan indeks purifikasi fikobiliprotein dalam ekstraksi rumput laut adalah waktu panen rumput laut. Francavilla *et al.* (2013) meneliti bahwa rumput laut *Gracilaria gracilis* yang dipanen pada bulan Januari memberikan hasil yang lebih tinggi dibandingkan bulan-bulan yang lain.



Gambar 16. Konsentrasi Fikobiliprotein pada *Gracilaria gracilis* (Francavilla *et al.*, 2013)

Hal ini juga didukung oleh Galland-Irmouli *et al.*, (2000) dimana kandungan fikoeritrin dari ekstrak kasar dari rumput laut yang dipanen di bulan Februari, Mei, Juli dan Oktober masing-masing memiliki presentase 6,7; 7,6; 5,9 dan 12,2% dari total protein karena sampel yang dipanen pada musim dingin dimana konsentrasi radiasi sinar dan nutrisi di perairan sesuai dengan biosintesis metabolit dibandingkan musim panas dan gugur (Francavilla *et al.*, 2013; Galland-Irmouli *et al.*, 1999). Paparan sinar matahari pada musim panas dapat merusak struktur protein (Galland-Irmouli *et al.*, 1999).

Selain musim, wilayah budidaya juga mempengaruhi, terlihat pada penelitian yang dilakukan oleh Usandizaga *et al.* (2018), *Gracilaria chilensis* yang berasal dari Chaica memiliki *yield* yang lebih tinggi dibandingkan *Gracilaria chilensis* yang berasal dari Ancud. Hal ini disebabkan ekologi dari kedua area budidaya ini berbeda. Area budidaya Ancud terletak di mulut muara dengan substrat berlumpur, sementara Chaica terletak di teluk berpasir dengan pengaruh pasang surut yang sangat kuat (Usandizaga *et al.*, 2018). Salinitas yang rendah juga akan membantu untuk meningkatkan *yield*. Hal ini dapat dilihat dari penelitian Pereira *et al.* (2017) dimana konsentrasi tertinggi dihasilkan pada salinitas 15 dan 20 psu dibandingkan perlakuan dengan salinitas 30 psu.