

## BAB III

### HASIL

Berdasarkan diagram *fishbone* yang telah disusun, diketahui terdapat empat faktor utama yang terdiri dari delapan faktor dalam proses ekstraksi dan analisis yang berpotensi memengaruhi konsentrasi asam glutamat *edible seaweed* yang diperoleh. Berikut data yang dapat dibandingkan pada setiap faktor yang telah disusun dalam bentuk tabel perbandingan.

#### 3.1. Metode

##### 3.1.1. Metode Utama (Hidrolisis)

Tabel 3.1.1. Perbandingan Metode Hidrolisis secara Kimiawi, Enzimatis, dan Ultrasonikasi

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Metode Utama (Hidrolisis)		Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain	
		Jenis	Rincian			Metode Tambahan	Metode/Alat Analisis
<i>Rhodophyta (seaweed merah)</i>	<i>Gracilaria fisheri</i>	Kimiawi	HCl 6N (oven 110°C 24 jam)	2.220	[6a]	H – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
		Enzimatis	Enzim bromelin (10%) (oven 50°C 3 jam)	0.013	[6b]	H – Pemanasan (95°C 15 menit) – Sentrifugasi – Penyaringan – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	
	<i>Pyropia yezoensis</i>	Kimiawi	HCl 6N (oven 120°C 20 jam)	0.580–2.630	[61]	H – Penyaringan (2.5µm) – Evaporasi – Pelarutan ( <i>buffer</i> natrium sitrat pH 2.2) – Penyaringan (0.2µm)	L8900 <i>amino acid analyzer</i>

					– Pengenceran (air distilasi 40×)
Ultrasonikasi	Etanol (1 jam)	4.633	[14]	H – Evaporasi (24 jam di suhu ruang) – Penyaringan	RP–HPLC
				– Penambahan <i>buffer</i> fosfat & asetonitril (fase gerak)	

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.1.1., dapat diketahui bahwa penggunaan jenis metode utama (hidrolisis) yang berbeda ditemukan pada spesies *Gracilaria fisheri* dan *Pyropia yezoensis* (*rhodophyta* atau *seaweed* merah). Penggunaan metode hidrolisis secara enzimatis dengan 10% bromelin (oven 50°C 3 jam) menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang jauh lebih rendah dibanding metode standar yaitu hidrolisis secara kimiawi dengan HCl 6N (oven 110°C 24 jam). Kemudian, penggunaan metode hidrolisis dengan ultrasonikasi dan pelarut etanol (1 jam) menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih tinggi dibanding modifikasi metode standar yaitu hidrolisis secara kimiawi dengan HCl 6N (oven 120°C 20 jam). Selain jenis metode utama (hidrolisis), konsentrasi asam glutamat *Gracilaria fisheri* yang diperoleh dalam *review* ini kemungkinan juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan metode tambahan, sedangkan pada *Pyropia yezoensis*, konsentrasi asam glutamat yang diperoleh kemungkinan juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan metode tambahan atau metode/alat analisis.

### 3.1.2. Metode Tambahan

Tabel 3.1.2. Perbandingan Kombinasi Metode Tambahan Setelah Proses Hidrolisis

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Metode & Proses Hidrolisis	Metode Tambahan	Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain	
						Alat Pemanas	Metode/Alat Analisis
<i>Rhodophyta</i> ( <i>seaweed</i> merah)	<i>Porphyra umbilicalis</i>	Kimiawi: HCl 6N (110°C 24 jam)	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	0.289–2.830	[53]	Oven	RP–HPLC
			H – Sentrifugasi – Penetralan ( <i>buffer</i> borat pH 10.2) – Penambahan norvalin – Sentrifugasi	2.107–2.591	[22]	Blok pemanas	
<i>Phaeophyta</i> ( <i>seaweed</i> coklat)	<i>Saccharina latissimi</i>	Kimiawi: HCl 6N (110°C 24 jam)	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	0.0091–0.758	[53]	Oven	RP–HPLC
			–	0.00012–0.017	[3]	Blok pemanas	
<i>Chlorophyta</i> ( <i>seaweed</i> hijau)	<i>Ulva lactuca</i>	Kimiawi: HCl 6N (110°C 24 jam)	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	0.155–2.078	[53]	Oven	RP–HPLC
			H – Pengeringan (vakum) – Derivatisasi (PITC) – Pengeringan (vakum) – Pelarutan ( <i>buffer</i> fosfat) – Pengaturan pH menjadi 7.4 (asetonitril) – Penyaringan	0.0026	[10]		
			–	0.012–0.019	[48]		LC3000 <i>amino acid analyzer</i>
	<i>Ulva rigida</i>	Kimiawi: HCl 6N	H – Pengeringan ( <i>under nitrogen/vakum</i> ) – Pelarutan (air)	1.060–2.260	[16]	Oven	RP–HPLC

(110°C 24 jam)	deionisasi) – Penambahan <i>buffer</i> borat - Derivatisasi (etoksimetilen malonat)			
	H – Sentrifugasi – Penetralan ( <i>buffer</i> borat pH 10.2) – Penambahan norvalin – Sentrifugasi	0.947	[22]	Blok pemanas

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.1.2., dapat diketahui bahwa penggunaan kombinasi metode tambahan setelah hidrolisis yang berbeda ditemukan pada spesies *Porphyra umbilicalis* (*rhodophyta* atau *seaweed* merah), *Saccharina latissima* (*phaeophyta* atau *seaweed* coklat), serta *Ulva lactuca* dan *Ulva rigida* (*chlorophyta* atau *seaweed* hijau). Hidrolisis dilakukan secara kimiawi dengan HCl 6N pada suhu 110°C selama 24 jam. Pengeringan (*flushing with air*) dan pelarutan (HAc 0.2N) (jurnal [53]) merupakan kombinasi metode tambahan setelah hidrolisis yang paling banyak dibandingkan karena sudah diterapkan pada berbagai spesies seperti *Porphyra umbilicalis*, *Saccharina latissima*, dan *Ulva lactuca*. Penggunaan kombinasi metode tambahan jurnal [53] setelah hidrolisis menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih tinggi dibanding tidak menggunakan metode tambahan setelah hidrolisis atau menggunakan kombinasi metode tambahan jurnal [22] dan [10]. Kemudian, penggunaan kombinasi metode tambahan jurnal [22] setelah hidrolisis menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih rendah dibanding menggunakan kombinasi metode tambahan jurnal [16]. Selain kombinasi metode tambahan setelah hidrolisis, konsentrasi asam glutamat berbagai spesies tersebut kemungkinan juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan alat pemanas atau metode/alat analisis.

### 3.2. Pelarut Hidrolisis

#### 3.2.1. Pelarut Utama (Katalis)

Tabel 3.2.1. Perbandingan Pelarut Utama (Katalis) pada Proses Hidrolisis secara Kimiawi

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Pelarut Utama (Katalis) [Pelarut Tambahan]	Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain		
					Proses Hidrolisis	Metode Tambahan	Metode/Alat Analisis
<i>Rhodophyta</i> ( <i>seaweed</i> merah)	<i>Chondrus crispus</i>	HCl 6N	1.900–3.522	[44]	Oven 110°C 23 jam	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin)	Jeol JLC– 500/V <i>amino acid analyzer</i>
		MSA 4N [0.2% triptamin]	0.618–0.684	[2]	Oven 110°C 24 jam	H – Penyaringan (vakum) – Pengenceran ( <i>ultrapure water</i> ) – Penyaringan (membran selulosa 0.45µm)	RP–HPLC
<i>Palmaria palmata</i>		HCl 6N	0.870–1.857	[44]	Oven 110°C 23 jam	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin)	Jeol JLC– 500/V <i>amino acid analyzer</i>
		HCl 12N [Air distilasi & norleusin 20mM]	2.130 2.040–5.030	[20] [21]	Oven 110°C 24 jam	H – Evaporasi (gas nitrogen/vakum) – Pelarutan ( <i>buffer</i> litium sitrat pH 2.2)	Biochrom B30 <i>amino acid analyzer</i>
		HCl 12N [Norleusin 20mM]	1.780–3.000	[25]			

<i>Phaeophyta</i> (seaweed coklat)	<i>Alaria esculenta</i>	HCl 6N	0.850–1.275	[44]	Oven 110°C 23 jam	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin)	Jeol JLC– 500/V <i>amino acid analyzer</i>
		HCl 12N [Air distilasi & norleusin 20mM]	2.010	[20]	Oven 110°C 24 jam	H – Evaporasi (gas nitrogen/vakum) – Pelarutan ( <i>buffer</i> litium sitrat pH 2.2)	Biochrom B30 <i>amino acid analyzer</i>
		HCl 12N [Norleusin 20mM]	1.390–1.590	[25]			
<i>Ascophyllum nodosum</i>	HCl 6N		1.715	[19]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP–HPLC
			0.290–1.649	[1]	Oven 110°C 23jam	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin) – Derivatisasi (ninhidrin)	Jeol JLC– 500/V <i>amino acid analyzer</i>
		HCl 0.01N [Air distilasi]	0.047–0.072	[4]	Blok pemanas 90°C 1.5 jam	H – Sentrifugasi	GC/MSD
		MSA 4N [0.2% triptamin]	0.446–0.680	[2]	Oven 110°C 24 jam	H – Penyaringan (vakum) – Pengenceran ( <i>ultrapure water</i> ) – Penyaringan (membran selulosa 0.45µm)	RP–HPLC

<i>Fucus vesiculosus</i>	HCl 6N	1.974	[19]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
		0.032–0.757	[44]	Oven 110°C 23 jam	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin)	Jeol JLC-500/V <i>amino acid analyzer</i>
	HCl 12N [Air distilasi & norleusin 20mM]	1.790	[20]	Oven 110°C 24 jam	H – Evaporasi (gas nitrogen) – Pelarutan ( <i>buffer</i> litium sitrat pH 2.2)	Biochrom B30 <i>amino acid analyzer</i>
	HCl 0.01N [Air distilasi]	0.043–0.054	[4]	Blok pemanas 90°C 1.5 jam	H – Sentrifugasi	GC/MSD
<i>Undaria pinnatifida</i>	HCl 6N	2.030	[52]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
	HCl	0.570–2.110	[56]	Oven 110°C 22 jam	H – Penyaringan (membran 0.45µm) – Pengenceran (Milli-Q <i>water</i> ) – Derivatisasi (PITC)	HPLC
	MSA 4N [0.2% triptamin]	1.207–1.264	[2]	Oven 110°C 24 jam	H – Penyaringan (vakum) – Pengenceran ( <i>ultrapure water</i> ) –	RP-HPLC

<i>Chlorophyta</i> ( <i>seaweed</i> hijau)	<i>Ulva lactuca</i>	HCl 6N	0.0026	[10]	Oven 110°C 24 jam	Penyaringan (membran selulosa 0.45µm) H – Pengeringan (vakum) – Derivatisasi (PITC) – Pengeringan (vakum) – Pelarutan ( <i>buffer</i> fosfat) – pH diatur menjadi 7.4 (asetonitril) – Penyaringan	RP–HPLC
			0.155–2.078	[53]		H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	
			0.012–0.019	[48]		-	LC3000 <i>amino acid</i> <i>analyzer</i>
		HCl 12N [Air distilasi & norleusin 20mM]	1.220	[20]	Oven 110°C 24 jam	H – Evaporasi (gas nitrogen) – Pelarutan ( <i>buffer</i> litium sitrat pH 2.2)	Biochrom B30 <i>amino</i> <i>acid analyzer</i>
		HCl panas [5% fenol]	1.476	[35]	Oven 110°C 24 jam	H – Evaporasi – Pelarutan ( <i>buffer</i> NLE- 100/norleusin)	IEC (CEC)
		HCl panas [1% fenol]	0.756	[60]	Oven 108°C 24 jam	H – Evaporasi (vakum) – Derivatisasi (PITC)	RP–HPLC
		Asam Perklorat 8N	3.308	[12]	Oven 110°C 24 jam	H – Penyaringan (membran) – Derivatisasi (PITC) – Evaporasi (vakum 60°C) – Pelarutan (fase gerak)	UPLC

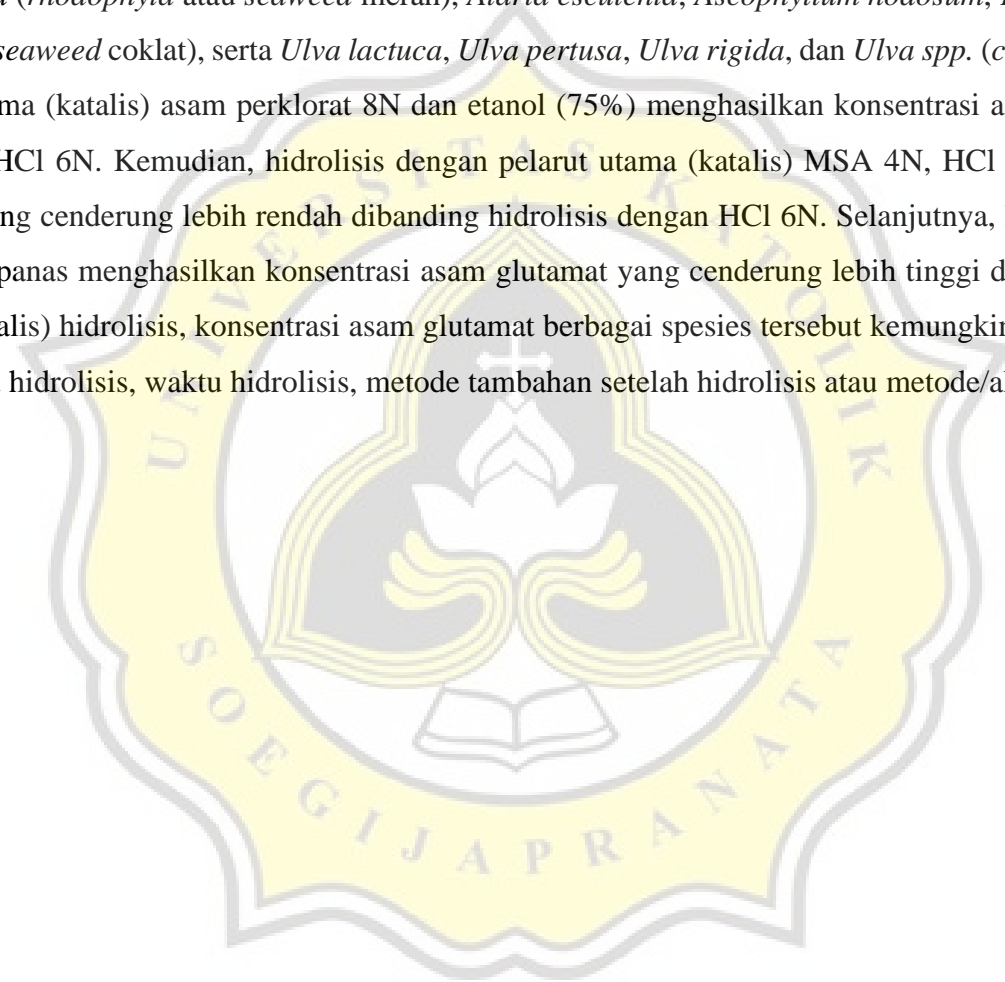


<i>Ulva pertusa</i>	HCl 6N	2.330	[37]	Oven 105°C 24 jam	H – Pengenceran – Penyaringan	L8900 <i>amino acid analyzer</i>
	Etanol (75%) (3× pengulangan; diulang setelah penyaringan)	2.300–6.600	[63]	Oven 100°C 0.25 jam	H – Penyaringan – Kondensasi (vakum) – Penghilangan lemak & pigmen (dietil eter) – Pengeringan (vakum) – Pelarutan ( <i>buffer</i> litium sitrat 0.15N pH 2.2)	HPLC
<i>Ulva rigida</i>	HCl 6N	1.060–2.260	[16]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengeringan ( <i>under nitrogen</i> /vakum) – Pelarutan (air deionisasi) – Penambahan <i>buffer</i> borat – Derivatisasi (etoksimetilen malonat)	RP-HPLC
	HCl panas	1.636	[35]		H – Evaporasi – Pelarutan ( <i>buffer</i> NLE- 100/norleusin)	IEC (CEC)
<i>Ulva spp.</i>	HCl 6N	2.750	[39]	Oven 110°C 23jam	-	HPLC
		0.324–0.722	[27]	Oven 110°C 22 jam	H – Pengaturan pH menjadi 2.2 (norleusin)	
	MSA 4N [0.2% triptamin]	0.836–1.216	[2]	Oven 110°C 24 jam	H – Penyaringan (vakum) – Pengenceran ( <i>ultrapure water</i> ) – Penyaringan (membran selulosa 0.45µm)	RP-HPLC

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.2.1., dapat diketahui bahwa penggunaan pelarut utama (katalis) hidrolisis yang berbeda ditemukan pada spesies *Chondrus crispus* dan *Palmaria palmata* (*rhodophyta* atau seaweed merah), *Alaria esculenta*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, dan *Undaria pinnatifida* (*phaeophyta* atau seaweed coklat), serta *Ulva lactuca*, *Ulva pertusa*, *Ulva rigida*, dan *Ulva spp.* (*chlorophyta* atau seaweed hijau). Hidrolisis dengan pelarut utama (katalis) asam perklorat 8N dan etanol (75%) menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih tinggi dibanding hidrolisis dengan HCl 6N. Kemudian, hidrolisis dengan pelarut utama (katalis) MSA 4N, HCl 0.01N, atau HCl menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih rendah dibanding hidrolisis dengan HCl 6N. Selanjutnya, hidrolisis dengan pelarut utama (katalis) HCl 12 N atau HCl panas menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih tinggi dibanding hidrolisis dengan HCl 6N. Selain pelarut utama (katalis) hidrolisis, konsentrasi asam glutamat berbagai spesies tersebut kemungkinan juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan alat pemanas, suhu hidrolisis, waktu hidrolisis, metode tambahan setelah hidrolisis atau metode/alat analisis.



### 3.2.2. Pelarut Tambahan

Tabel 3.2.2. Perbandingan Pelarut Tambahan pada Proses Hidrolisis secara Kimiawi

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Pelarut		Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain		
		Utama	Tambahan			Proses Hidrolisis	Metode Tambahan	Metode/Alat Analisis
<i>Rhodophyta</i> ( <i>seaweed</i> merah)	<i>Palmaria palmata</i>	HCl 12N	Norleusin 20mM	1.780–3.000	[25]	Oven 110°C 24 jam	H – Evaporasi (gas nitrogen/vakum) – Pelarutan ( <i>buffer</i> litium sitrat pH 2.2)	Biochrom B30 <i>amino</i> <i>acid</i> <i>analyzer</i>
			Air distilasi & norleusin 20mM	2.130 2.040–5.030	[20] [21]			
	<i>Porphyra purpurea</i>	HCl 6N	–	2.757	[52]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
			Norvalin 3.125mM & DTT 0.1M	2.003	[30]	Oven 110°C 22 jam	H – Sentrifugasi – Pengenceran (air deionisasi) – Penyaringan – Derivatisasi (reagen AccQ Tag)	UPLC
	<i>Porphyra umbilicalis</i>	HCl 6N	–	0.289–2.830	[53]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	RP-HPLC
			Norvalin 3.125mM & DTT 0.1M	2.036	[30]	Oven 110°C 22 jam	H – Sentrifugasi – Pengenceran (air deionisasi) – Penyaringan –	UPLC

							Derivatisasi (reagen AccQ Tag)	
<i>Phaeophyta</i> (seaweed coklat)	<i>Alaria esculenta</i>	HCl 12N	Norleusin 20mM	1.390–1.590	[25]	Oven 110°C	H – Evaporasi (gas nitrogen/vakum) –	Biochrom B30 amino acid analyzer
			Air distilasi & norleusin 20mM	2.010	[20]	24 jam	Pelarutan ( <i>buffer</i> litium sitrat pH 2.2)	
	<i>Ascophyllum nodosum</i>	HCl 6N	–	1.715	[19]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
			Norvalin 3.125mM & DTT 0.1M	0.571	[30]	Oven 110°C 22 jam	H – Sentrifugasi – Pengenceran (air deionisasi) – Penyaringan – Derivatisasi (reagen AccQ Tag)	UPLC
	<i>Fucus vesiculosus</i>	HCl 6N	–	1.974	[19]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
			Norvalin 3.125mM & DTT 0.1M	0.645	[30]	Oven 110°C 22 jam	H – Sentrifugasi – Pengenceran (air deionisasi) – Penyaringan – Derivatisasi (reagen AccQ Tag)	UPLC

<i>Saccharina latissimi</i>	HCl 6N	–	0.0091–0.758	[53]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengeringan (flushing with air) – Pelarutan (HAc 0.2N)	RP–HPLC	
			1% fenol & DTDPA dalam NaOH 0.2M	0.611–2.998		[23]	H – Pengeringan – Pelarutan (buffer A: natrium sitrat)	Waters <i>amino acid analyzer</i>
			0.4% merkaptotanol	0.855–0.944		[41]	H – Penyaringan – Pengaturan pH menjadi 2.2 – Pengenceran (buffer sitrat pH 2.2)	HPLC
			Norvalin 3.125mM & DTT 0.1M	1.352		[30]	H – Sentrifugasi – Pengenceran (air deionisasi) – Penyaringan – Derivatisasi (reagen AccQ Tag)	UPLC
<i>Chlorophyta Ulva lactuca</i> (seaweed hijau)	HCl 6N	–	0.0026	[10]	Oven 110°C 24 jam	H – Pengeringan (vakum) – Derivatisasi (PITC) – Pengeringan (vakum) – Pelarutan (buffer fosfat) – pH diatur menjadi 7.4 (asetonitril) – Penyaringan	RP–HPLC	
			0.155–2.078	[53]		H – Pengeringan (flushing with air) – Pelarutan (HAc 0.2N)		

		0.1% fenol	1.095	[9]		H – Penambahan <i>buffer</i> sitrat (pH 2.2) – pH diatur antara 0.5-1 (NaOH 7.5N) & 2.2 (NaOH 1N) – Penambahan norleusin – Pengenceran ( <i>buffer</i> sitrat) – Penyaringan	HPLC
		Norvalin 3.125mM & DTT 0.1M	2.363	[30]	Oven 110°C 22 jam	H – Sentrifugasi – Pengenceran (air deionisasi) – Penyaringan – Derivatisasi (reagen AccQ Tag)	UPLC
<i>Ulva lactuca</i>	HCl panas	5% fenol	1.476	[35]	Oven 110°C 24 jam	H – Evaporasi – Pelarutan ( <i>buffer</i> NLE-100/norleusin)	IEC (CEC)
		1% fenol	0.756	[60]	Oven 108°C 24 jam	H – Evaporasi (vakum) – Derivatisasi (PITC)	RP-HPLC
<i>Ulva rigida</i>	HCl 6N	–	0.947	[22]	Blok pemanas 110°C 24 jam	H – Sentrifugasi – Penetralkan ( <i>buffer</i> borat pH 10.2) – Penambahan norvalin – Sentrifugasi	RP-HPLC
		1% fenol	0.120	[50]		H – Derivatisasi (PITC)	

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.2.2., dapat diketahui bahwa penambahan pelarut lain yang berbeda ke dalam pelarut utama (katalis) hidrolisis ditemukan pada spesies *Palmaria palmata*, *Porphyra purpurea*, dan *Porphyra umbilicalis* (*rhodophyta* atau *seaweed* merah), *Alaria esculenta*, *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, dan *Saccharina latissima* (*phaeophyta* atau *seaweed* coklat), serta *Ulva lactuca* dan *Ulva rigida* (*chlorophyta* atau *seaweed* hijau). Penambahan 0.4% merkaptoetanol menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih tinggi dibanding tanpa pelarut tambahan. Lalu, penambahan 1% fenol menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih rendah dibanding tanpa pelarut tambahan atau dengan penambahan 5% fenol. Kemudian, penambahan air distilasi & norleusin 20 mM atau 1% fenol & DTDPA dalam NaOH 0.2M menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih tinggi dibanding dengan penambahan norleusin 20mM atau tanpa pelarut tambahan. Selanjutnya, penambahan norvalin 3.125mM & DTT 0.1M atau 0.1% fenol menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih rendah dibanding tanpa pelarut tambahan. Selain pelarut tambahan, konsentrasi asam glutamat berbagai spesies tersebut juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan suhu hidrolisis, waktu hidrolisis, metode tambahan setelah hidrolisis, atau metode/alat analisis.

### 3.3. Proses Hidrolisis

#### 3.3.1. Alat Pemanas

Tabel 3.3.1. Perbandingan Alat Pemanas pada Proses Hidrolisis secara Kimiawi

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Metode & Proses Hidrolisis	Alat Pemanas	Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain	
						Metode Tambahan	Metode/Alat Analisis
<i>Rhodophyta</i> ( <i>seaweed</i> merah)	<i>Gracilaria corticata</i>	HCl 6N (24 jam)	Oven (110°C)	0.964	[24]	–	HPLC
			Waterbath (100°C)	0.254	[33]	H – Sentrifugasi – Penyaringan – Penetralan (NaOH 0.1N) – Pengenceran (air deionisasi)	RP–HPLC
	<i>Porphyra umbilicalis</i>	HCl 6N (110°C 24 jam)	Oven	0.289–2.830	[53]	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	RP–HPLC
			Blok pemanas	2.107–2.591	[22]	H – Sentrifugasi – Penetralan ( <i>buffer</i> borat pH 10.2) – Penambahan norvalin – Sentrifugasi	
<i>Phaeophyta</i> ( <i>seaweed</i> coklat)	<i>Saccharina latissima</i>	HCl 6N (110°C)	Oven (24 jam)	0.0091–0.758	[53]	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	RP–HPLC
			Oven (23 jam)	1.680–3.650	[54]	H – Pengaturan pH menjadi 2.2	Biochrom B30 <i>amino acid analyzer</i>
			Blok pemanas (24 jam)	0.00012–0.017	[3]	–	RP–HPLC
			Microwave (1 jam)	0.470–1.265	[15]	–	HPLC



				1.001–2.495	[43]	H – Penambahan EZ:faast	
				0.240–3.313	[62]	<i>amino acid analysis kit</i>	
<i>Chlorophyta</i> ( <i>seaweed</i> hijau)	<i>Ulva</i> <i>rigida</i>	HCl 6N (110°C 24 jam)	Oven	1.060–2.260	[16]	H – Pengeringan ( <i>under nitrogen</i> /vakum) – Pelarutan (air deionisasi) – Penambahan <i>buffer</i> borat – Derivatisasi (etoksimetilen malonat)	RP–HPLC
			Blok pemanas	0.947	[22]	H – Sentrifugasi – Penetralan ( <i>buffer</i> borat pH 10.2) – Penambahan norvalin – Sentrifugasi	

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.3.1., dapat diketahui bahwa penggunaan alat pemanas yang berbeda untuk hidrolisis ditemukan pada spesies *Gracilaria corticate* dan *Porphyra umbilicalis* (*rhodophyta* atau *seaweed* merah), *Saccharina latissima* (*phaeophyta* atau *seaweed* coklat), serta *Ulva rigida* (*chlorophyta* atau *seaweed* hijau). Penggunaan alat pemanas berupa *waterbath* atau blok pemanas untuk hidrolisis menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih rendah dibanding konsentrasi asam glutamat yang diperoleh dengan alat pemanas berupa oven dan/atau *microwave*. Kemudian, penggunaan alat pemanas berupa *microwave* untuk hidrolisis menghasilkan kisaran konsentrasi asam glutamat yang cenderung berada dalam kisaran konsentrasi asam glutamat yang diperoleh dengan alat pemanas berupa oven. Selain alat pemanas, konsentrasi asam glutamat berbagai spesies tersebut juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan metode tambahan setelah hidrolisis atau metode/alat analisis.

### 3.3.2. Suhu Hidrolisis

Tabel 3.3.2. Perbandingan Suhu pada Proses Hidrolisis secara Kimiawi

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Metode & Proses Hidrolisis	Suhu Hidrolisis	Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain		
						Pelarut Tambahkan	Metode Tambahan	Metode/Alat Analisis
<i>Chlorophyta (seaweed hijau)</i>	<i>Ulva lactuca</i>	HCl panas (oven 24 jam)	110°C	1.476	[35]	5% fenol	H – Evaporasi – Pelarutan ( <i>buffer</i> NLE-100/norleusin)	IEC (CEC)
			108°C	0.756	[60]	1% fenol	H – Evaporasi (vakum) – Derivatisasi (PITC)	RP–HPLC

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.3.2., dapat diketahui bahwa penggunaan suhu hidrolisis yang berbeda ditemukan pada spesies *Ulva lactuca* (*chlorophyta* atau *seaweed* hijau). Hidrolisis (HCl panas oven 24 jam) pada suhu 108°C (jurnal [60]) menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih rendah dibanding konsentrasi asam glutamat yang diperoleh dari hidrolisis pada suhu 110°C (jurnal [35]). Selain suhu hidrolisis, konsentrasi asam glutamat *Ulva lactuca* yang diperoleh dalam *review* ini juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan pelarut tambahan, metode tambahan setelah hidrolisis, atau metode/alat analisis.

### 3.3.3. Waktu Hidrolisis

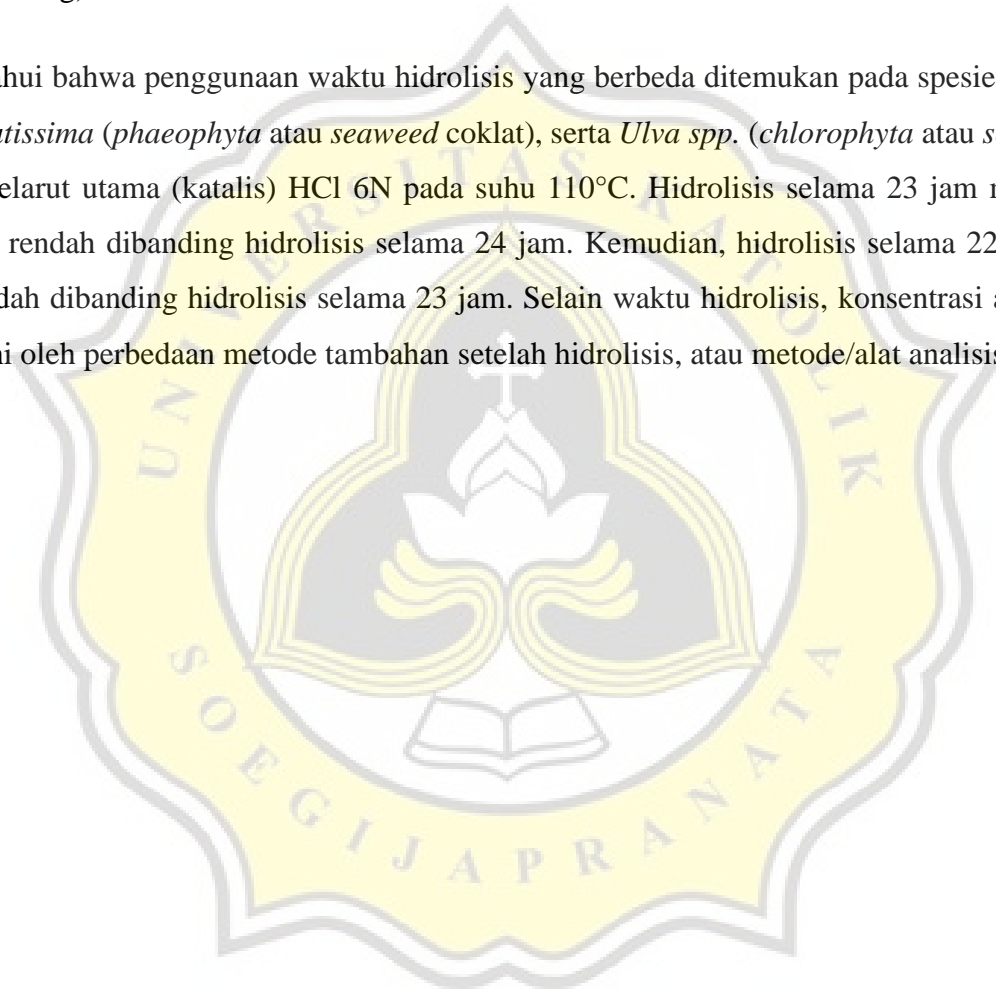
Tabel 3.3.3. Perbandingan Waktu pada Proses Hidrolisis secara Kimiawi

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Metode & Proses Hidrolisis	Waktu Hidrolisis	Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain	
						Metode Tambahan	Metode/Alat Analisis
<i>Phaeophyta</i> ( <i>seaweed</i> coklat)	<i>Ascophyllum nodosum</i>	HCl 6N (oven 110°C)	24 jam	1.715	[19]	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
			23 jam	0.290–1.649	[1]	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin) – Derivatisasi (ninhidrin)	Jeol JLC-500/V <i>amino acid analyzer</i>
	<i>Fucus vesiculosus</i>	HCl 6N (oven 110°C)	24 jam	1.974	[19]	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)	RP-HPLC
			23 jam	0.032–0.757	[44]	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin)	Jeol JLC-500/V <i>amino acid analyzer</i>
	<i>Saccharina latissima</i>	HCl 6N (oven 110°C)	24 jam	0.0091–0.758	[53]	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)	RP-HPLC
			23 jam	1.680–3.650	[54]	H – Pengaturan pH menjadi 2.2	Biochrom B30 <i>amino acid analyzer</i>
<i>Chlorophyta</i> ( <i>seaweed</i> hijau)	<i>Ulva spp.</i>	HCl 6N (oven 110°C)	23jam	2.750	[39]	–	HPLC
			22 jam	0.324–0.722	[27]	H – Pengaturan pH menjadi 2.2 (norleusin)	

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.3.3., dapat diketahui bahwa penggunaan waktu hidrolisis yang berbeda ditemukan pada spesies *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, dan *Saccharina latissima* (*phaeophyta* atau *seaweed* coklat), serta *Ulva spp.* (*chlorophyta* atau *seaweed* hijau). Berbagai spesies tersebut dihidrolisis dengan pelarut utama (katalis) HCl 6N pada suhu 110°C. Hidrolisis selama 23 jam menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih rendah dibanding hidrolisis selama 24 jam. Kemudian, hidrolisis selama 22 jam menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih rendah dibanding hidrolisis selama 23 jam. Selain waktu hidrolisis, konsentrasi asam glutamat berbagai spesies tersebut juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan metode tambahan setelah hidrolisis, atau metode/alat analisis.



### 3.4. Metode atau Alat Analisis

Tabel 3.4. Perbandingan Metode atau Alat Analisis Asam Glutamat

Jenis <i>Edible Seaweed</i>	Spesies <i>Edible Seaweed</i>	Metode & Proses Hidrolisis	Metode/Alat Analisis	Asam Glutamat (g/100g dw <i>seaweed</i> )	Refe- rensi	Faktor Lain	
						Waktu Hidrolisis	Metode Tambahan
<i>Phaeophyta</i> ( <i>seaweed</i> coklat)	<i>Ascophyllum nodosum</i>	Kimiawi: HCl 6N (oven 110°C)	RP-HPLC	1.715	[19]	24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)
			Jeol JLC-500/V <i>amino acid analyzer</i>	0.290–1.649	[1]	23 jam	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin) – Derivatisasi (ninhidrin)
	<i>Fucus vesiculosus</i>	Kimiawi: HCl 6N (oven 110°C)	RP-HPLC	1.974	[19]	24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)
			Jeol JLC-500/V <i>amino acid analyzer</i>	0.032–0.757	[44]	23 jam	H – Presipitasi (24% TCA) – Sentrifugasi – Pengenceran ( <i>buffer</i> natrium sitrat 0.2N pH 2.2) – Pengenceran (norleusin)
	<i>Saccharina latissima</i>	Kimiawi: HCl 6N (oven 110°C)	RP-HPLC	0.0091–0.758	[53]	24 jam	H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)
			Biochrom B30 <i>amino acid analyzer</i>	1.680–3.650	[54]	23 jam	H – Pengaturan pH menjadi 2.2
<i>Chlorophyta</i> ( <i>seaweed</i> hijau)	<i>Ulva lactuca</i>	Kimiawi: HCl 6N	RP-HPLC	0.0026	[10]	24 jam	H – Pengeringan (vakum) – Derivatisasi (PITC) – Pengeringan (vakum) – Pelarutan ( <i>buffer</i> fosfat) –

	(oven 110°C)		0.155–2.078	[53]		pH diatur 7.4 (asetonitril) – Penyaringan
		LC3000 <i>amino acid analyzer</i>	0.012–0.019	[48]		H – Pengeringan ( <i>flushing with air</i> ) – Pelarutan (HAc 0.2N)
<i>Ulva ohnoi</i>	Kimiawi: HCl 6N (oven 110°C)	RP-HPLC	2.000	[40]	24 jam	H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)
		UPLC	1.822–2.188	[58]		H – Pengenceran (air distilasi) – Penyaringan (0.45µm) – Derivatisasi (reagen AccQ-Fluor)

Keterangan:

dw = *dry weight* (berat bahan kering)

Dari Tabel 3.3.3., dapat diketahui bahwa penggunaan metode/alat analisis yang berbeda ditemukan pada spesies *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, dan *Saccharina latissima* (*phaeophyta* atau *seaweed* coklat), serta *Ulva lactuca* dan *Ulva ohnoi* (*chlorophyta* atau *seaweed* hijau). Berbagai spesies tersebut dihidrolisis dengan HCl 6N pada oven yang bersuhu 110°C. Analisis dengan Jeol JLC-500/V *amino acid analyzer* menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih rendah dibanding analisis dengan RP-HPLC. Lalu, analisis dengan Biochrom B30 *amino acid analyzer* menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang lebih tinggi dibanding analisis dengan RP-HPLC. Kemudian, analisis dengan LC3000 *amino acid analyzer* menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang cenderung lebih rendah dibanding analisis dengan RP-HPLC. Selanjutnya, analisis dengan RP-HPLC menghasilkan konsentrasi asam glutamat yang berada dalam kisaran konsentrasi asam glutamat yang diperoleh dari analisis dengan UPLC. Selain metode/alat analisis, konsentrasi asam glutamat berbagai spesies tersebut juga dapat dipengaruhi oleh perbedaan waktu hidrolisis atau metode tambahan setelah hidrolisis.