

## Intisari

Kebutuhan antioksidan alami yang semakin meningkat serta adanya pembatasan pada penggunaan antioksidan sintetik mendorong dilakukannya penelitian untuk mengeksplorasi potensi antioksidan alami dari sumber baru. *Astaxanthin* merupakan salah satu senyawa antioksidan alami dari mikroalga *Haematococcus pluvialis* yang memiliki kekuatan antioksidan lebih tinggi dari vitamin C dan vitamin E. Beberapa langkah untuk menghasilkan *Astaxanthin* murni berbentuk bubuk yang siap dikomersialkan diantaranya adalah: 1) kultivasi, 2) pemanenan, 3) *pretreatment*, 4) ekstraksi, 5) purifikasi. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mempelajari jenis solven yang tepat pada proses ekstraksi, mengevaluasi parameter proses ekstraksi dengan pemodelan matematika, melakukan uji *radical scavenging* dari ekstrak yang dihasilkan, mempelajari jenis *stationary* dan *mobile phase* untuk proses purifikasi pada kromatografi kolom, mengevaluasi parameter proses pemisahan dalam kromatografi kolom dengan pemodelan matematika, serta mengkaji *Life Cycle Assessment* (LCA) untuk melihat dampak negatif pada produksi *Astaxanthin* skala industri.

*Pretreatment* dilakukan sebagai langkah awal sebelum ekstraksi dan dilakukan dengan mencampur mikroalga dengan larutan HCl 4N pada suhu 70°C selama 2 menit. Setelah itu dilanjutkan proses ekstraksi dengan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) selama 10 menit dengan beberapa solven pada suhu 5°C di bawah suhu didih solven. Ekstrak yang dihasilkan kemudian dianalisa aktivitas *radical scavenging*nya. Jika tergolong aktif, maka ekstrak dipurifikasi untuk mendapatkan senyawa *Astaxanthin* murni. Proses purifikasi dilakukan dengan kromatografi kolom, dan diawali dengan penentuan *mobile phase* (eluen) dengan metode *Thin Layer Chromatography* (TLC). Selain itu, uji adsorpsi dan desorpsi juga dilakukan untuk menentukan jenis *stationary phase* yang tepat sebagai bahan isian kromatografi kolom. Proses purifikasi dengan kromatografi kolom dipelajari dengan memvariasi kecepatan *mobile phase* yang masuk serta ukuran diameter *stationary phase* yang digunakan. Sampel yang dihasilkan merupakan cairan yang keluar dari kromatografi kolom yang ditampung setiap 10 menit, dan dianalisa dengan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC).

Dari proses ekstraksi, didapatkan bahwa aseton merupakan solven terbaik dalam mengekstrak *Astaxanthin* dari *Haematococcus pluvialis* dibandingkan dengan metanol, etanol, dan diklorometana. Proses ekstraksi dapat disimulasikan dengan pemodelan matematika dengan model keseimbangannya mengikuti model Henry, Freundlich dan Langmuir. Selanjutnya ekstrak yang dihasilkan terbukti memiliki aktivitas *radical scavenging* yang tergolong aktif sehingga dapat dilanjutkan ke proses purifikasi dengan kolom kromatografi.

Dari hasil TLC, didapatkan bahwa campuran *n*-heksana dan aseton dengan perbandingan 3:1 (v/v) dapat digunakan sebagai *mobile phase* pada kromatografi kolom. Dan dari hasil pengujian adsorpsi dan desorpsi didapatkan bahwa silika gel dapat digunakan sebagai *stationary phase* pada kolom kromatografi. *Mobile phase* serta *stationary phase* kemudian digunakan untuk proses purifikasi dengan kromatografi kolom. Dari hasil purifikasi, ternyata dihasilkan senyawa *Astaxanthin* yang belum murni. Sampel keluar kromatografi kolom masih mengandung beberapa senyawa lain. Purifikasi *Astaxanthin* baru mampu mengeliminasi beberapa senyawa non *Astaxanthin* yang bercampur di ekstrak mikroalga hasil ekstraksi. Dari simulasi proses purifikasi dihasilkan beberapa konstanta yaitu diantaranya adalah difusivitas efektif *Astaxanthin* ke arah radial dalam adsorben,  $m^2/s$  ( $De_1$ ), difusivitas efektif *Astaxanthin* ke arah aksial

dalam kolom,  $m^2/s$  ( $De_2$ ), koefisien transfer massa *Astaxanthin* dari larutan ke adsorben,  $m/detik$  ( $kc_2$ ), koefisien transfer massa volumetris *Astaxanthin* dari larutan ke adsorben,  $1/detik$  ( $kc_2.a$ ), serta konstanta Henry untuk keseimbangan *Astaxanthin* di larutan dan silika gel,  $g\ silika\ gel/m^3$  ( $H_2$ ).

Evaluasi *life cycle assesemnt* (LCA) dilakukan untuk mengevaluasi proses produksi *Astaxanthin* yang memberikan *impact* pada lingkungan yang paling besar. Proses ekstraksi dengan menggunakan pelarut aseton terbukti berkontribusi paling besar dalam menyumbangkan *marine ecotoxicity impact*, sehingga disarankan untuk meningkatkan jumlah aseton yang di *recycle* serta mengurangi perbandingan antara aseton dengan mikroalga yang diekstraksi.

**Kata kunci:** *Astaxanthin*, Ekstraksi, Keseimbangan, Purifikasi, *Thin Layer Chromatography*, Kolom Kromatografi, Life Cycle Assesement

## Abstract

The increasing of demand for natural antioxidants and restrictions on the use of synthetic antioxidants have driven research to explore the potential of natural antioxidants from new resources. *Astaxanthin* from *Haematococcus pluvialis* (*H. pluvialis*) is a natural antioxidant which has a higher antioxidant activity compared to vitamin C and vitamin E. *Astaxanthin* production consist of 5 steps which are: 1) cultivation, 2) harvesting, 3) pretreatment, 4) extraction, and 5) purification. The purpose of this research is to study the appropriate solvent in the extraction process to simulate extraction process with mathematical modeling, to calculate the radical scavenging activity of *H. pluvialis* extract, to study the appropriate stationary and mobile phases for the purification process in column chromatography, to simulate purification process in the column chromatography with mathematical modeling, and to review the Life Cycle Assessment (LCA) to analyze the negative impact on industrial scale *Astaxanthin* production.

Pretreatment was carried out as an initial step before extraction process by mixing microalgae with 4N HCl solution at 70°C for 2 minutes. Extraction process was performed with Microwave Assisted Extraction (MAE) for 10 minutes with 4 type of solvents at temperature 5°C below the boiling point of each solvent. The extract resulted from extraction was analyzed for its radical scavenging activity. The next process continued by purification to obtain pure *Astaxanthin* compounds. Purification process is carried out by column chromatography, started with the determination of mobile and stationary phase using Thin Layer Chromatography (TLC) method and adsorption desorption tests.

Purification process by column chromatography was studied by varying the velocity of mobile phase and diameter of stationary phase used. Liquid came out from chromatography column collected every 10 minutes and analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC).

Acetone was the best solvent in extraction process compared to methanol, ethanol, and dichloromethane. The process can be simulated by mathematical modeling with Henry, Freundlich and Langmuir models. The extract is proven as an active antioxidant.

TLC and adsorption-desorption test concluded that a mixture of n-hexane and acetone with a ratio of 3:1 (v/v) can be used as a mobile phase meanwhile silica gel can be used as a stationary phase in chromatography column. Purification has not been able to produce pure *Astaxanthin* because it still contains some other compounds and only able to eliminate some non-*Astaxanthin*.

Several constants were calculated from purification simulation, including the radial effective diffusivity of *Astaxanthin* in the adsorbent, m<sup>2</sup>/s (De1), the axial effective diffusivity of *Astaxanthin* in the column, m<sup>2</sup>/s (De2), the mass transfer coefficient of *Astaxanthin* from the solution to the adsorbent, m/sec (kc2), volumetric mass transfer coefficient of *Astaxanthin* from solution to adsorbent, 1/second (kc2.a), and Henry's constant of *Astaxanthin* and silica gel equilibrium, g silica gel/m<sup>3</sup> (H2).

LCA was carried out to evaluate the environment impact of *Astaxanthin* production in industrial scale. Extraction process using acetone has been proven to be the most contributing impact to marine ecotoxicity, so it was recommended to increase amount of recycled acetone and to reduce the ratio between acetone and microalgae.



UNIVERSITAS  
GADJAH MADA

**STUDI EKSTRAKSI ASTAXANTHIN DARI MIKROALGA *Haematococcus pluvialis* DENGAN METODE MICROWAVE**

PUTRI RESTU DEWATI, Prof. Dr.Eng. Ir. Arief Budiman, M.S, IPU; Prof. Ir. Rochmadi, S.U., Ph.D., IPU ; Prof. Dr. Ab

Universitas Gadjah Mada, 2022 | Diunduh dari <http://etd.repository.ugm.ac.id/>

**Keywords:** *Astaxanthin*, Extraction, Equilibrium, Purification, Thin Layer Chromatography, Column Chromatography, Life Cycle Assesment