

STUDI EKSTRAKSI *C-PHYCOCYANIN* DALAM MIKROALGA *ARTHROSPIRA PLATENSIS* DENGAN SUPERKRITIK CO₂

CHE 184650-04 Penelitian

Disusun untuk memenuhi tugas akhir guna mencapai gelar
sarjana di bidang ilmu Teknik Kimia

oleh:

Michelle Wiro Linggo

(2017620049)

Pembimbing:

Prof. Dr. Ir. Judy Retti B. Witono, M.App.Sc.

Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T.



**PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN**

2021

STUDI EKSTRAKSI *C-PHYCOCYANIN* DALAM MIKROALGA *ARTHROSPIRA PLATENSIS* DENGAN SUPERKRITIK CO₂

CHE 184650-04 Penelitian

Disusun untuk memenuhi tugas akhir guna mencapai gelar
sarjana di bidang ilmu Teknik Kimia

oleh:

Michelle Wiro Linggo

(2017620049)

Pembimbing:

Prof. Dr. Ir. Judy Retti B. Witono, M.App.Sc.

Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T.



**PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN**

2021

LEMBAR PENGESAHAN

JUDUL : STUDI EKSTRAKSI *C-PHYCOCYANIN* DALAM MIKROALGA *ARTHROSPIRA PLATENSIS* DENGAN SUPERKRITIK CO₂

CATATAN :

Telah diperiksa dan disetujui,
Bandung, 12 Juli 2021

Pembimbing 1



Prof. Dr. Ir. Judy Retti B. Witono, M.App.Sc.

Pembimbing 2



Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T.

LEMBAR PENGESAHAN

JUDUL : STUDI EKSTRAKSI *C-PHYCOCYANIN* DALAM MIKROALGA *ARTHROSPIRA PLATENSIS* DENGAN SUPERKRITIK CO₂

CATATAN :

Telah diperiksa dan disetujui,
Bandung, 12 Juli 2021

Penguji 1



Ir. Y. I. P. Arry Miryanti, M.Si.

Penguji 2



Anastasia Prima Kristijarti, S.Si, M.T.



**PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN**

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Michelle Wiro Linggo

NPM : 2017620049

dengan ini menyatakan bahwa laporan penelitian dengan judul:

STUDI EKSTRAKSI *C-PHYCOCYANIN* DALAM MIKROALGA *ARTHROSPIRA PLATENSIS* DENGAN SUPERKRITIK CO₂

adalah hasil pekerjaan saya dan seluruh ide, pendapat atau materi dari sumber lain telah dikutip dengan cara penulisan referensi yang sesuai.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan jika pernyataan ini tidak sesuai dengan kenyataan, maka saya bersedia menanggung sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bandung, 30 Juni 2021



Michelle Wiro Linggo

(6217049)

INTISARI

Mikroalga memiliki potensi dan aplikasi yang sangat luas, salah satunya dalam bidang kesehatan. Mikroalga mengandung senyawa-senyawa yang bermanfaat seperti antioksidan. Antioksidan dapat menetralkan atau menangkal radikal bebas dalam tubuh dan mencegah timbulnya beberapa penyakit. Mikroalga *Arthrospira platensis* dapat menghasilkan *C-phycoerythrin* (C-PC) dengan kadar yang tinggi. *C-phycoerythrin* (C-PC) merupakan pigmen fotosintesis *cyanobacteria* yang terikat pada *phycobiliprotein*. C-PC, yang dapat bertindak sebagai antioksidan, memiliki bioaktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan karotenoid yang juga dikandung *A. platensis*. Untuk memperoleh C-PC dilakukan ekstraksi padat – cair dengan metode novel yang menggunakan pelarut tidak beracun, konsumsi pelarut dan energi yang lebih rendah, temperatur yang lebih rendah, waktu ekstraksi yang singkat, dan memberikan selektivitas yang lebih tinggi. Metode ekstraksi novel yang digunakan adalah *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) dengan fluida CO₂. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan kondisi operasi terbaik dari metode SFE agar mendapatkan perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak tertinggi.

Parameter SFE yang divariasikan dalam penelitian ini adalah penggunaan *co-solvent* (0 dan 10 %-v/v CO₂), besarnya tekanan operasi (25 dan 30 MPa), serta besarnya laju alir CO₂ (10 dan 12 mL/menit). Mikroalga kering dipecahkan selnya dengan ultrasonikasi, kemudian diekstraksi dengan metode SFE-CO₂. Sebagai pembandingan, ekstraksi maserasi dan SFE tanpa *pre-treatment* ultrasonikasi juga dilakukan. Pada ekstrak yang diperoleh kemudian dilakukan analisis perolehan ekstrak dan C-PC, serta analisis aktivitas antioksidan ekstrak dengan uji DPPH menggunakan spektrofotometer UV/VIS.

Dari hasil penelitian ini, SFE belum dapat menjadi alternatif dari metode konvensional maserasi pada kondisi penelitian ini karena C-PC tidak dapat terekstrak dengan baik. Untuk metode SFE, tekanan operasi terbaik dicapai pada 25 MPa. Perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak akan meningkat dengan penggunaan *co-solvent* dan laju alir CO₂ yang besar. Perolehan ekstrak tertinggi yang didapatkan pada penelitian ini adalah 3,3 %, dan untuk aktivitas antioksidan tertinggi dengan nilai IC₅₀ 658,8 ppm. Hasil ini diperoleh dengan penggunaan *co-solvent* etanol 10 %-v/v terhadap CO₂, tekanan 25 MPa, dan laju alir CO₂ 12 mL/min. Kemudian *pre-treatment* ultrasonikasi dapat meningkatkan perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak.

Kata kunci: *Arthrospira platensis*, *C-phycoerythrin*, *supercritical fluid extraction* – CO₂, perolehan *C-phycoerythrin*, perolehan ekstrak, aktivitas antioksidan ekstrak.

ABSTRACT

Microalgae have very broad potential and applications, one of which is in health. Microalgae contains useful compounds such as antioxidants. Antioxidants can neutralize or scavenge free radicals in the body and prevent several diseases. Arthrospira platensis microalgae can produce high levels of C-phycoerythrin (C-PC). C-PC is a cyanobacteria's photosynthetic pigment that binds to phycobiliproteins. C-PC, which able to act as an antioxidant, has higher bioactivity compared to carotenoids, which are also contained in A. platensis. To obtain C-PC, solid – liquid extraction was carried out with a novel method that uses non-toxic solvents, lower energy and solvent consumption, lower temperature, short extraction time, and provides higher selectivity. The novel extraction method used is Supercritical Fluid Extraction (SFE) with CO₂ fluid. The purpose of this study was to determine the best operating conditions of the SFE method in order to obtain the highest yield of C-PC, as well as the yield and antioxidant activity of the extract.

The SFE parameters that were varied in this study were the use of co-solvent (0 and 10 %-v/v CO₂), the operating pressure (25 and 30 MPa), and the flow rate of CO₂ (10 and 12 mL/min). The dry microalgae cells were disrupted by ultrasonication, then extracted using the SFE-CO₂ method. As a comparison, maceration and SFE extraction without ultrasonication pre-treatment was also performed. The extract obtained was then analyzed for the recovery of the extract and C-PC, as well as analysis of the antioxidant activity of the extract by DPPH test using UV/VIS spectrophotometer.

From the results of this study, SFE cannot be an alternative to conventional maceration methods in this research condition because C-PC cannot be extracted properly. For the SFE method, the best operating pressure is achieved at 25 MPa. The yield and antioxidant activity of the extract will increase with the use of co-solvent and higher CO₂ flow rate. The highest extract obtained in this study was 3.3%, and for the highest antioxidant activity the IC₅₀ value was 658.8 ppm. These results were obtained by using co-solvent ethanol 10 %-v/v to CO₂, pressure 25 MPa, and CO₂ flow rate 12 mL/min. Then ultrasonication pre-treatment can increase the yield of C-PC, as well as the yield and antioxidant activity of the extract.

Keywords: *Arthrospira platensis, C-phycoerythrin, supercritical fluid extraction – CO₂, C-phycoerythrin yield, C-phycoerythrin antioxidant activity.*

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan anugerah-Nya penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian yang berjudul “Studi Ekstraksi *C-phycocyanin* dalam Mikrolaga *Arthrospira platensis* dengan Superkritik CO₂” sesuai dengan waktu yang telah ditentukan.

Dalam penyusunan laporan penelitian ini, penulis mendapat bimbingan, pengarahan, serta bantuan informasi dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang turut berperan dalam penyusunan laporan penelitian ini, terutama kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Judy Retti B. Witono, M.App.Sc. dan Dr. Angela Justina Kumalaputri, S.T., M.T., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, motivasi, masukan, serta saran yang bermanfaat selama penyusunan laporan penelitian.
2. Orang tua dan keluarga yang selalu memberikan dukungan doa dan motivasi selama penyusunan laporan penelitian.
3. Seluruh dosen dan karyawan Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katolik Parahyangan yang telah memberikan ilmu, informasi, dan masukan yang bermanfaat bagi penulis selama penyusunan laporan penelitian.
4. Rekan-rekan mahasiswa Teknik Kimia UNPAR angkatan 2017 yang selalu memberikan dukungan dalam bertukar ilmu dan informasi.
5. Semua pihak yang baik secara langsung maupun tidak langsung telah membantu dalam penyusunan laporan penelitian.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penyusunan laporan penelitian ini karena keterbatasan kemampuan dan pengetahuan penulis. Oleh karena itu, penulis ingin mengharapkan adanya kritik dan saran yang membangun dari pembaca untuk dapat memperbaiki dan menyusun laporan penelitian ini menjadi lebih baik. Akhir kata, semoga informasi yang terdapat dalam laporan penelitian ini dapat bermanfaat bagi berbagai pihak.

Bandung,

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
SURAT PERNYATAAN	iv
LEMBAR PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiv
INTISARI	xvi
<i>ABSTRACT</i>	
xvii	
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Tema Sentral Masalah	5
1.3 Identifikasi Masalah	6
1.4 Premis	6
1.5 Hipotesis	6
1.6 Tujuan Penelitian	7
1.7 Manfaat Penelitian	7
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1 Mikroalga	10
2.1.1 Klasifikasi Mikroalga	10
2.1.2 Aplikasi Mikroalga	12
2.2 <i>Arthrospira platensis</i>	13
2.3 Kandungan Antioksidan <i>A. platensis</i>	16
2.3.1 Antioksidan	16
2.3.2 <i>C-phycoyanin</i>	18
2.4 Ekstraksi Padat – Cair	20

2.4.1 Ekstraksi Konvensional	22
2.4.2 Ekstraksi Novel	23
2.5 Ekstraksi <i>C-phycoyanin</i>	26
2.5.1 Pengawetan Biomassa	26
2.5.2 <i>Pre-treatment</i> Mekanis Biomassa	28
2.5.3 Ekstraksi Menggunakan Superkritik CO ₂	28
2.5.3.1 Keunikan Fisik Fluida pada Titik Kritik	29
2.5.3.2 Parameter Ekstraksi	30
BAB 3 METODE PENELITIAN	36
3.1 Bahan dan Peralatan Penelitian	36
3.2 Metode Penelitian	39
3.2.1 <i>Pre-treatment</i>	39
3.2.2 Proses Ekstraksi	40
3.2.2.1 <i>Supercritical Fluid Extraction</i>	40
3.2.3 Analisis Perolehan	42
3.2.4 Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak	43
3.2.5 Lokasi dan Jadwal Kerja Penelitian	43
BAB 4 PEMBAHASAN	44
4.1 <i>Pre-treatment</i>	44
4.2 Penelitian Utama.....	47
4.2.1 Ekstraksi Konvensional Maserasi.....	47
4.2.2 <i>Supercritical Fluid Extraction</i>	47
4.3 Analisis Perolehan	52
4.3.1 Variasi Penggunaan <i>Co-solvent</i> Terhadap Perolehan	53
4.3.2 Variasi Tekanan Terhadap Perolehan	55
4.3.3 Variasi Laju Alir CO ₂ Terhadap Perolehan	57
4.4 Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak.....	58
4.4.1 Variasi Penggunaan <i>Co-solvent</i> Terhadap Perolehan	59
4.4.2 Variasi Tekanan Terhadap Perolehan	61
4.4.3 Variasi Laju Alir CO ₂ Terhadap Perolehan	63

BAB 5 KESIMPULAN DAN SARAN	65
5.1 Kesimpulan	65
5.2 Saran	65
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN A : METODE ANALISIS	81
A.1 Penentuan Kadar <i>C-phycoyanin</i>	81
A.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak dengan Uji DPPH	82
LAMPIRAN B : <i>MATERIAL SAFETY DATA SHEET</i>	83
B.1 Aseton	83
B.2 Bufer Sodium Fosfat	83
B.3 <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> (DPPH)	84
B.4 Etanol	84
B.5 Gas CO ₂	85
B.6 Gas N ₂	85
LAMPIRAN C : DATA PENGAMATAN	87
C.1 Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak	87
C.1.1 Tahap <i>Pre-treatment</i>	87
C.1.2 Tahap Ekstraksi Maserasi	87
C.1.3 Tahap Ekstraksi Superkritik CO ₂	88
C.2 Analisis Perolehan Ekstrak	90
C.2.1 Tahap <i>Pre-treatment</i>	90
C.2.2 Tahap Ekstraksi Superkritik CO ₂	91
C.3 Analisis Perolehan C-PC	91
C.3.1 Tahap <i>Pre-treatment</i>	91
C.3.2 Tahap Ekstraksi Maserasi dan Superkritik CO ₂	91
LAMPIRAN D : GRAFIK	92
D.1 Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak	92
D.1.1 Tahap <i>Pre-treatment</i>	92
D.1.2 Tahap Ekstraksi Maserasi	93
D.1.3 Tahap Ekstraksi Superkritik CO ₂	93
D.2 Hasil Analisis Perolehan Ekstrak	97
D.2.1 Tahap <i>Pre-treatment</i>	97

D.2.2 Tahap Ekstraksi Superkritik CO ₂	98
D.3 Analisis Perolehan C-PC	99
D.3.1 Tahap <i>Pre-treatment</i>	99
D.3.2 Tahap Ekstraksi Maserasi dan Superkritik CO ₂	100
LAMPIRAN E : CONTOH PERHITUNGAN	101
E.1 Penentuan % Inhibisi	101
E.2 Penentuan Nilai IC ₅₀	101
E.3 Penentuan Perolehan Ekstrak	101
E.4 Penentuan Perolehan C-PC	102

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Piramida Nilai Ekonomi Produk Biomassa	1
Gambar 2.1 Struktur Kimia <i>C-phycoyanin</i>	19
Gambar 2.2 Diagram Fasa Fluida	30
Gambar 3.1 Skema <i>Ultrasonic Bath</i>	37
Gambar 3.2 Foto Alat <i>Ultrasonic Bath</i>	37
Gambar 3.3 Skema Ekstraktor Fluida Superkritik	38
Gambar 3.4 Foto Alat Ekstraktor Fluida Superkritik	39
Gambar 3.5 Proses <i>Pre-treatment</i> Mekanik dengan Ultrasonik	40
Gambar 3.6 Proses Ekstraksi Superkritik CO ₂	40
Gambar 4.1 Filtrat <i>Pre-treatment</i> Sebelum Dievaporasi.....	46
Gambar 4.2 Filtrat <i>Pre-treatment</i> Sesudah Dievaporasi	46
Gambar 4.3 Filtrat <i>Pre-treatment</i> Setelah Dilarutkan Kembali dengan Etanol p.a.....	46
Gambar 4.4 Ekstrak Maserasi.....	47
Gambar 4.5 Ekstrak SFE dengan <i>Co-solvent</i>	48
Gambar 4.6 Ekstrak SFE Tanpa <i>Co-solvent</i>	48
Gambar 4.7 Ekstrak Metode SFE.....	50
Gambar 4.8 Ekstrak Z-1 SFE Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi.....	51
Gambar 4.9 Ekstrak Z-2 SFE Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi.....	51
Gambar 4.10 Ekstrak SFE Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi	52
Gambar 4.11 Pengaruh Penggunaan <i>Co-solvent</i> Terhadap Perolehan Ekstrak SFE pada Laju Alir CO ₂ 12 mL/min	54
Gambar 4.12 Pengaruh Tekanan Terhadap Perolehan Ekstrak SFE dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i>	56
Gambar 4.13 Pengaruh Tekanan Terhadap Perolehan Ekstrak SFE Dengan dan Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi	57
Gambar 4.14 Uji DPPH Ekstrak SFE.....	58
Gambar 4.15 Uji DPPH Ekstrak Maserasi	59
Gambar 4.16 Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap IC ₅₀ Ekstrak <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi 60	
Gambar 4.17 Pengaruh Penggunaan <i>Co-solvent</i> Terhadap IC ₅₀ Ekstrak SFE pada Laju Alir CO ₂ 12 mL/min	60

Gambar 4.18 Pengaruh Tekanan Terhadap IC ₅₀ Ekstrak SFE dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i>	62
Gambar 4.19 Pengaruh Tekanan Terhadap IC ₅₀ Ekstrak SFE Dengan dan Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi	63
Gambar A.1 Proses Ekstraksi Maserasi <i>C-phycoyanin</i>	81
Gambar A.2 Proses Penentuan Kadar dan Perolehan <i>C-phycoyanin</i>	81
Gambar A.3 Proses Analisis Aktivitas Antioksidan Ekstrak dengan Metode DPPH	82
Gambar D.1 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak <i>Pre-treatment</i> dengan Pelarut Etanol 96 %	92
Gambar D.2 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak <i>Pre-treatment</i> dengan Pelarut Aseton 96 %	92
Gambar D.3 Konsentrasi C-PC Terhadap % Inhibisi Ekstrak Maserasi	93
Gambar D.4 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE (<i>Co-solvent</i> 10 %, 25 MPa, 12 mL/min)	93
Gambar D.5 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE (<i>Co-solvent</i> 10 %, 25 MPa, 10 mL/min)	94
Gambar D.6 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE (<i>Co-solvent</i> 10 %, 30 MPa, 12 mL/min)	94
Gambar D.7 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE (<i>Co-solvent</i> 10 %, 30 MPa, 10 mL/min)	95
Gambar D.8 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE (<i>Co-solvent</i> 0 %, 25 MPa, 12 mL/min)	95
Gambar D.9 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE (<i>Co-solvent</i> 0 %, 30 MPa, 12 mL/min)	96
Gambar D.10 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi (<i>Co-solvent</i> 10 %, 25 MPa, 12 mL/min).....	96
Gambar D.11 Konsentrasi Sampel Terhadap % Inhibisi Ekstrak SFE Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi (<i>Co-solvent</i> 10 %, 30 MPa, 12 mL/min).....	97
Gambar D.12 Pengaruh Pelarut Terhadap Perolehan Ekstrak <i>Pre-treatment</i>	97
Gambar D.13 Pengaruh Tekanan Terhadap Perolehan Ekstrak SFE dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i>	98
Gambar D.14 Pengaruh Penggunaan <i>Co-solvent</i> Terhadap Perolehan Ekstrak SFE pada laju alir CO ₂ 12 mL/min.....	98

Gambar D.15 Pengaruh Tekanan Terhadap Perolehan Ekstrak SFE Dengan dan Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi	99
Gambar D.16 Pengaruh Pelarut Terhadap Perolehan Ekstrak <i>Pre-treatment</i>	99
Gambar D.17 Perbandingan Perolehan Ekstrak Metode Maserasi dan SFE (<i>Co-solvent</i> 10 %, 25 MPa, 12 mL/min)	100

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Komposisi dan Kepadatan Mikroalga Planktonik di Danau Sunter 2, Situ Babakan, Situ Ulin-Salam, Situ Agathis, dan Danau Lido	2
Tabel 1.2 Tabel Premis	9
Tabel 2.1 Sistem Klasifikasi <i>Arthrospira platensis</i>	14
Tabel 2.2 Komposisi Umum Biomassa <i>Arthrospira platensis</i>	14
Tabel 2.3 Komposisi Pigmen Biomassa <i>Arthrospira platensis</i> (<i>Spirulina platensis</i>)	15
Tabel 2.4 Komposisi Fenolik Biomassa <i>Arthrospira platensis</i> dan Ekstraknya	15
Tabel 2.5 Komposisi <i>Flavonoids</i> Biomassa <i>Arthrospira platensis</i> dan Ekstraknya	15
Tabel 2.6 Tingkat Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	18
Tabel 2.7 Indeks Polaritas dan Konstanta Dielektrik	20
Tabel 2.8 Sifat Fisik Utama Fluida dalam Fasa Cair, Gas, dan Superkritik	30
Tabel 2.9 Sifat Kritik Pelarut	30
Tabel 2.10 Sifat Fisik CO ₂ pada Temperatur dan Tekanan Tertentu	32
Tabel 3.1 Variasi Variabel Penelitian	42
Tabel 3.2 Jadwal Kerja Penelitian	43
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Perolehan Ekstrak dari <i>Pre-treatment</i> , Ekstraksi Maserasi dan Ekstraksi Superkritik CO ₂	52
Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak dari <i>Pre-treatment</i> , Ekstraksi Maserasi dan Ekstraksi Superkritik CO ₂	59
Tabel 4.3 Perbandingan IC ₅₀ Ekstrak Maserasi dan SFE	64
Tabel B.1 MSDS Aseton	83
Tabel B.2 MSDS Bufer Sodium Fosfat	83
Tabel B.3 MSDS <i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i> (DPPH)	84
Tabel B.4 MSDS Etanol	84
Tabel B.5 MSDS CO ₂	85
Tabel B.6 MSDS N ₂	85
Tabel C.1 Hasil Pengamatan Ekstrak <i>Pre-treatment</i> dengan Pelarut Etanol 96 %	87
Tabel C.2 Hasil Pengamatan Ekstrak <i>Pre-treatment</i> dengan Pelarut Aseton 96 %	87
Tabel C.3 Hasil Pengamatan Ekstrak Maserasi	87
Tabel C.4 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i> 10%, Tekanan 25 MPa, Laju Alir CO ₂ 12 mL/min	88

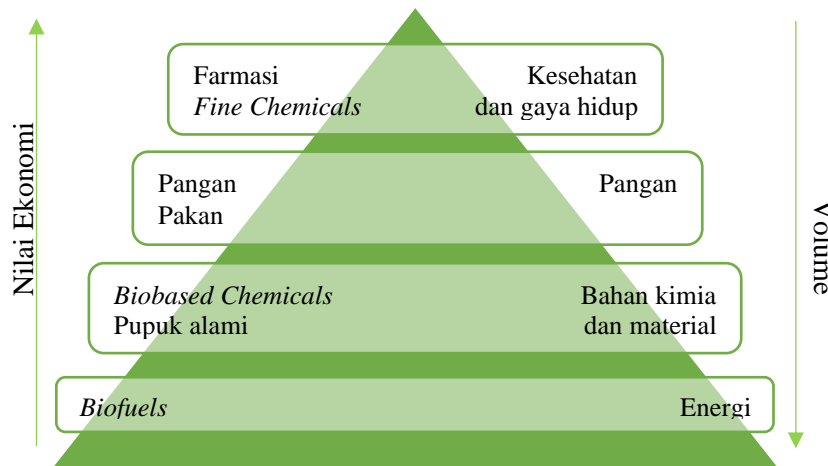
Tabel C.5 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i> 10%, Tekanan 25 MPa, Laju Alir CO ₂ 10 mL/min.....	88
Tabel C.6 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i> 10%, Tekanan 25 MPa, Laju Alir CO ₂ 12 mL/min.....	88
Tabel C.7 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i> 10%, Tekanan 30 MPa, Laju Alir CO ₂ 12 mL/min.....	89
Tabel C.8 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i> 10%, Tekanan 30 MPa, Laju Alir CO ₂ 10 mL/min.....	89
Tabel C.9 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik Tanpa <i>Pre-treatment</i> Ultrasonikasi dengan Penggunaan <i>Co-solvent</i> 10%, Tekanan 30 MPa, Laju Alir CO ₂ 12 mL/min.....	89
Tabel C.10 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik Tanpa <i>Co-solvent</i> , Tekanan 25 MPa, Laju Alir CO ₂ 12 mL/min	90
Tabel C.11 Hasil Pengamatan Ekstrak Superkritik Tanpa <i>Co-solvent</i> , Tekanan 25 MPa, Laju Alir CO ₂ 12 mL/min	90
Tabel C.12 Hasil Pengamatan Perolehan Ekstrak <i>Pre-treatment</i>	90
Tabel C.13 Hasil Pengamatan Perolehan Ekstrak Superkritik CO ₂	91
Tabel C.14 Hasil Pengamatan Perolehan C-PC Ekstrak <i>Pre-treatment</i>	91
Tabel C.15 Hasil Pengamatan Perolehan C-PC Ekstrak Maserasi dan Ekstrak Superkritik CO ₂	91

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dengan iklim tropis memiliki keanekaragaman hayati yang sangat tinggi, termasuk di antaranya mikroalga. Mikroalga merupakan sumber daya alam yang terbarukan, berkelanjutan, serta ekonomis. Mikroalga memiliki aplikasi yang luas dan memiliki potensi yang besar terutama dalam bidang energi terbarukan, biofarmasi, dan *nutraceutical*. Masing-masing aplikasi memiliki nilai ekonomi dan volume yang berbeda, yang jika disusun dapat membentuk piramida produk biomassa seperti dalam Gambar 1.1.



Gambar 1.1. Piramida Nilai Ekonomi Produk Biomassa (Lange & Lindedam, 2016)

Biofuel dengan volume terbesar dalam piramida memiliki potensi yang tinggi karena mikroalga memiliki kandungan lipid yang tinggi, yaitu mencapai 50 – 70 % DW (*Dry Weight* atau berat biomassa kering). Walaupun demikian, dengan keterbatasan teknologi yang ada saat ini (budidaya, pengeringan dan pemanenan, *pre-treatment*, dan fermentasi dengan perolehan tinggi), produksi masal mikroalga masih menjadi kendala. Biaya operasional, pemeliharaan, panen, dan konversinya masih tinggi sehingga optimasi sistem dengan biaya yang efektif masih diperlukan (Khan et al., 2018).

Bidang kesehatan menduduki tempat tertinggi pada piramida produk biomassa. Perkembangan ilmu pengetahuan di bidang kesehatan, menyadari bahwa beberapa penyakit disebabkan oleh kerusakan oksidatif yang dipicu oleh ketidakseimbangan radikal bebas di dalam tubuh. Radikal bebas diproduksi oleh tubuh secara alami, namun juga bisa

didapatkan dari faktor eksternal seperti asap rokok, polusi, pestisida, mikroba, alergen, serta radiasi UV dan gamma (Rodríguez-Serrano et al., 2015). Ketidakseimbangan tersebut dapat dicegah dengan menggunakan antioksidan. Antioksidan akan menghambat terjadinya oksidasi yang menghasilkan radikal bebas dan dengan demikian mengurangi potensi terjadinya kerusakan fungsi sel yang berujung pada peningkatan kesehatan (Salehi et al., 2018).

Antioksidan diproduksi oleh tubuh, namun ada juga yang diperoleh dari makanan atau obat-obatan. Konsumsi antioksidan di Indonesia masih terbilang rendah dibandingkan dengan negara-negara lain. Sebagai gambaran, menurut penelitian yang dilakukan oleh Sefrina et al. (2017), estimasi median asupan total karotenoid pada usia dewasa di Indonesia adalah sebesar 551,62 µg/hari. Nilai tersebut jauh lebih rendah dibandingkan dengan median asupan total karotenoid di Spanyol (5.274,50 µg/hari) dan Amerika Serikat (8.800 µg/hari).

Dengan meningkatnya kesadaran akan pentingnya produk alami bagi kesehatan, permintaan terhadap antioksidan alami juga mengalami peningkatan (Guerin et al., 2003). Antioksidan alami umumnya dapat diperoleh dari tumbuhan, salah satunya mikroalga. Salah satu mikroalga yang menghasilkan antioksidan dengan bioaktivitas yang baik adalah *Arthrospira platensis*, dan antioksidan yang dimaksud adalah *C-phycoyanin* (C-PC).

Walaupun belum banyak dieksplorasi, *Arthrospira platensis* yang hidup pada perairan tawar dapat ditemukan bertumbuh di danau Sunter 2 (Jakarta Utara), Situ Babakan (Jakarta Selatan), dan Situ Ulin-Salam (Depok) bersama dengan beberapa mikroalga lainnya. Data kelimpahan mikroalga tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.1. Dari data tersebut dapat dilihat bahwa mikroalga *A. platensis* juga cukup melimpah di Indonesia. Dengan demikian, produksi C-PC dari mikroalga *A. platensis* memiliki potensi yang besar di Indonesia.

Tabel 1.1. Komposisi dan Kepadatan Mikroalga Planktonik di Danau Sunter 2, Situ Babakan, Situ Ulin-Salam, Situ Agathis, dan Danau Lido (Prihantini et al., 2010)

No.	Divisi	Genus/Spesies	Situ/Danau (plankter/m ³)				
			Sunter 2	Babakan	Ulin-Salam	Agathis	Lido
1	<i>Cyanobacteria</i>	<i>Aphanothece</i> sp.	0	7071	0	0	0
2		<i>Arthrospira</i> sp.	4443926	645200	1768	0	0
3		<i>Chroococcus</i> sp.	0	102525	44192	884	0
4		<i>Chroococcus dispersus</i>	0	5706927	0	0	0
5		<i>Gloeocapsa</i> sp.	0	0	0	0	8839
6		<i>Merismopedia</i> sp.	0	228914	1145451	10606	0

7	<i>Microcystis aeruginosa</i>	0	240403	8838	2652	12374
8	<i>Microcystis</i> sp.	0	164393	19444	12374	0
9	<i>Oscillatoria</i> sp.1	0	31818	0	6187	5303
10	<i>Oscillatoria</i> sp.2	0	239520	93687	4419	0
11	<i>Plankthothrix agardhii</i>	5586726	21212	0	4931803	0
12	<i>Romeria</i> sp.	0	68939	0	0	25631
13	<i>Spirulina</i> sp.	0	24747	0	0	0
14	<i>Synechococcus</i> sp.	0	15025	13258	884	0

A. platensis dapat mengakumulasi 14 % DW (*Dry Weight*) C-PC. C-PC umumnya digunakan sebagai pewarna alami dalam produk pangan dan kosmetik karena memiliki warna biru cerah, bersifat antioksidan, serta tidak beracun dan tidak karsinogenik. Selain menjadi pewarna alami dalam produk pangan dan kosmetik, C-PC juga digunakan sebagai *tracer* biokimia pada *immunoassay* karena sifatnya yang *fluorescent* (Martelli et al., 2014). Kesadaran akan hubungan antara kesehatan dan masalah kesehatan yang disebabkan oleh pewarna sintetis dalam produk pangan dan kosmetik menyebabkan peningkatan permintaan pewarna alami. Nilai pasar total aplikasi C-PC di dunia pada tahun 2013 diperkirakan mencapai lebih dari 60 dolar AS per tahunnya (Figueira et al., 2018).

C-PC memiliki aktivitas antioksidan, antikanker, dan antiinflamasi yang baik terutama dalam mengikat radikal hidroksil. Aktivitas antioksidan C-PC dua kali lebih tinggi dibandingkan dengan aktivitas antioksidan karotenoid (β -karoten, *lutein*, *astaxanthin*, *carytoxanthin*, dan *zeaxanthin*) yang dikandung *A. platensis* (El-Baky et al., 2003; Park et al., 2018). C-PC sebagai antioksidan memiliki efek *neuroprotective*, *hepatoprotective*, *renoprotective*, *cardiovascular protective*, serta dapat meningkatkan imunitas dan produksi antibodi tubuh (Q. Liu et al., 2016). C-PC memiliki efek antikanker dengan mengatur enzim *cyclooxygenase-2* (COX-2) yang dapat menyebabkan perkembangan tumor, angiogenesis, dan kanker tingkat akhir. C-PC memiliki struktur yang besar dan bentuknya dapat mengikat bagian aktif COX-2 (Reddy et al., 2000).

Berdasarkan data yang kelimpahan *A. platensis* di Indonesia pada Tabel 1.1 dapat dilihat bahwa Indonesia memiliki peluang yang besar. Namun saat ini data produksi C-PC dari *A. platensis* di Indonesia masih sedikit dan jurnal penelitian mengenai C-PC juga belum begitu banyak. Dengan demikian penelitian mengenai ekstraksi C-PC dari *A. platensis* ini memiliki peluang yang sangat besar, mengingat C-PC merupakan pewarna alami yang memiliki keunggulan bioaktivitas yang lebih tinggi dibandingkan dengan karotenoid yang juga dikandung *A. platensis*.

C-PC sebagai pewarna alami yang berasal dari mikroalga *A. platensis* memiliki harga jual yang lebih tinggi dibandingkan dengan pewarna sintetis karena proses ekstraksi dan pemurniannya membutuhkan biaya yang besar. Yang menjadi hambatan dalam proses ekstraksi dan pemurnian C-PC adalah dinding sel yang terdiri dari banyak lapisan serta proses penghilangan kontaminan yang membutuhkan beberapa langkah dan waktu yang panjang. C-PC dengan kemurnian yang lebih rendah dapat digunakan sebagai pewarna alami dalam industri pangan dan kosmetik dengan perkiraan harga jual \$ 0,35 tiap gramnya. C-PC dengan kemurnian yang lebih tinggi dapat digunakan dalam proses analisis dan perkiraan harga jualnya \$4.500,00 tiap gramnya. Perbedaan harga ini disebabkan oleh perbedaan kandungan kontaminan dalam ekstraknya (Figueira et al., 2018). Harga jual C-PC yang mahal, menyebabkan penggunaan C-PC menjadi bagian gaya hidup sehat yang merupakan tingkatan yang lebih tinggi dari kebutuhan fisiologis. Dengan demikian, C-PC hanya terjangkau oleh orang-orang dengan perekonomian menengah ke atas. Hal ini menjadi tantangan tersendiri dalam memproduksi C-PC yang dapat terjangkau bagi kalangan masyarakat yang lebih luas.

C-PC diperoleh melalui proses ekstraksi padat cair. Terdapat dua jenis ekstraksi padat cair, yaitu konvensional dan novel. Ekstraksi novel merupakan alternatif dari ekstraksi konvensional. Kelebihan ekstraksi novel dibandingkan dengan ekstraksi konvensional adalah berkurangnya jumlah pelarut, pelarut yang digunakan tidak beracun, limbah yang dihasilkan tidak banyak, konsumsi energi yang rendah, penggunaan temperatur yang lebih rendah, serta waktu ekstraksi yang lebih singkat. Selektivitas dalam mengisolasi senyawa yang diinginkan dari ekstraksi novel juga lebih tinggi. Selain itu, teknik-teknik ini juga memiliki selektivitas yang lebih tinggi dalam mengisolasi senyawa yang diinginkan dan mengurangi terbentuknya produk samping serta reaksi yang tidak diinginkan selama proses ekstraksi (Lijun Wang dan Weller, 2006; Duarte et al., 2014). Beberapa teknik ekstraksi novel yang cocok digunakan dalam mengekstrak senyawa bioaktif dari mikroalga adalah *Supercritical Fluid Extraction* (SFE), *Pressurized Liquid Extraction* (PLE), *Ultrasound Assisted Extraction* (UAE), *Microwave Assisted Extraction* (MAE), dan *Pulse Electric Field* (PEF).

Di antara teknik-teknik tersebut, SFE memiliki beberapa keunggulan. SFE memiliki waktu ekstraksi yang singkat, konsumsi energi yang rendah, dan limbah yang dihasilkannya sedikit. SFE juga menunjukkan selektivitas ekstraksi yang baik, degradasi produk ekstrak yang rendah, dan penggunaan pelarut yang berkualitas makanan (García-Pérez et al., 2016).

SFE menggunakan fluida superkritik yang memiliki karakteristik seperti cairan (densitas dan kemampuan melarutkan yang tinggi serta tegangan permukaan yang dapat diabaikan), sekaligus seperti gas (viskositas yang rendah dan kemampuan transportasi yang baik). Karakteristik ini membuat pelarut dapat dengan mudah masuk ke dalam material (Capuzzo et al., 2013; Sánchez-Camargo et al., 2017). Karbon dioksida (CO₂) adalah pelarut yang banyak digunakan pada SFE karena sifat termodinamika dan perpindahan panasnya. Selain itu CO₂ juga tidak beracun, tidak reaktif, tidak mudah terbakar, mudah ditemukan, aman bagi lingkungan, dan murah (Duarte et al., 2014; Crespi et al., 2018; García-Pérez et al., 2018). Sifat yang terpenting dari CO₂ adalah titik kritiknya yang rendah (31 °C, 73 bar) sehingga senyawa bioaktif (antioksidan) tidak terdegradasi secara termal (Sosa-Hernández et al., 2018). Degradasi adalah masalah utama dari berbagai teknik ekstraksi senyawa bioaktif karena dapat menghilangkan fungsi dari antioksidan tersebut. C-PC dapat terdegradasi jika dipanaskan pada temperatur lebih dari 57,5 °C (Q. Liu et al., 2016). Oleh karena itu teknik ekstraksi yang dipilih adalah *Supercritical Fluid Extraction* (SFE) dengan CO₂ superkritik sebagai pelarutnya. Penentuan kondisi proses terbaik untuk ekstraksi C-PC dengan SFE-CO₂ diperlukan sehingga dapat meningkatkan selektivitas terhadap C-PC. Dengan demikian, perolehan proses juga menjadi lebih tinggi.

1.2 Tema Sentral Masalah

Fokus utama dari penelitian ini berkaitan dengan masalah utama, yaitu proses ekstraksi C-PC dengan metode ekstraksi superkritik CO₂ dari biomassa *A. platensis*, yang belum banyak diteliti di Indonesia. Ekstraksi dengan metode konvensional, seperti maserasi dan *soxhlet*, membutuhkan pelarut organik dengan jumlah yang banyak, waktu yang panjang, dan temperatur yang tinggi. Hal ini tidak diinginkan karena berkaitan dengan sifat pelarut yang beracun, efisiensi yang rendah, dan kerusakan pada komponen bioaktif yang diekstrak (degradasi). Metode ekstraksi novel *Supercritical Fluid Extraction* dengan fluida CO₂ (SFE-CO₂) memiliki kelebihan dibandingkan dengan metode ekstraksi konvensional. Fluida CO₂ superkritik yang tidak beracun dengan kemampuan melarutkan yang tinggi, pada temperatur yang rendah diharapkan dapat menjadi alternatif bagi metode ekstraksi konvensional. Dengan demikian dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai metode SFE-CO₂ untuk ekstraksi C-PC dari *A. plantensis*.

Penelitian ini didasari oleh penelitian yang sudah dilakukan oleh peneliti lain sebelumnya mengenai pengaruh parameter ekstraksi. Akan tetapi, penelitian dengan metode

SFE-CO₂ yang ada di Indonesia saat ini belum menggunakan tahap *pre-treatment* pemecahan sel dengan ultrasonikasi dan memvariasikan tekanan operasi, penggunaan *co-solvent* polar, serta laju alir CO₂ terhadap perolehan C-PC, perolehan ekstrak, dan aktivitas antioksidan ekstrak (Tabel 1.2). Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian mengenai kondisi operasi terbaik dari ketiga variabel tersebut agar didapatkan perolehan dan aktivitas antioksidan yang tinggi.

1.3 Identifikasi Masalah

1. Bagaimana pengaruh penggunaan *co-solvent* etanol (0 % dan 10 %-v/v CO₂) terhadap perolehan C-PC, perolehan ekstrak, dan aktivitas antioksidan ekstrak?
2. Bagaimana pengaruh besarnya tekanan operasi terhadap perolehan C-PC, perolehan ekstrak, dan aktivitas antioksidan ekstrak?
3. Bagaimana pengaruh besarnya laju alir CO₂ terhadap perolehan C-PC perolehan ekstrak, dan aktivitas antioksidan ekstrak?

1.4 Premis

Penelitian ini mengacu pada penelitian beberapa sumber dari studi pustaka yang telah dilakukan, yang disajikan pada Tabel 1.2 dan Subbab 2.6.

1.5 Hipotesis

Berdasarkan studi pustaka yang dilakukan, hipotesis yang dapat disusun dari berbagai sumber tersebut dapat dituliskan sebagai berikut:

1. Semakin tinggi tekanan operasi hingga titik optimalnya maka semakin tinggi perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak. Peningkatan tekanan akan meningkatkan densitas pelarut sehingga jarak intermolekuler rata-rata berkurang serta membuat interaksi antara pelarut dan zat terlarut juga ikut meningkat. Dengan demikian kemampuan melarutkan pelarut meningkat. Kenaikan tekanan melebihi titik optimalnya akan menurunkan difusivitas yang akan mengurangi interaksi antara SC-CO₂ dan biomassa sehingga perolehan C-PC akan menurun. Kenaikan tekanan juga menyebabkan deprotonasi gugus yang bermuatan dan menghancurkan jembatan garam dan ikatan hidrofobik sehingga akan terjadi perubahan konformasi dan denaturasi protein.

2. Dengan penggunaan *co-solvent* polar, perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak akan meningkat. Sebagian besar komponen dalam *A. platensis* bersifat polar, termasuk C-PC dan beberapa antioksidan lainnya, seperti klorofil a dan flavonoid. Komponen-komponen yang bersifat polar lebih larut dalam pelarut yang bersifat polar juga. Tanpa *co-solvent*, CO₂ superkritik memiliki polaritas yang rendah, sehingga komponen yang dapat terlarut adalah komponen-komponen yang bersifat non polar, seperti karotenoid.
3. Semakin tinggi laju alir CO₂, maka jumlah molekul CO₂ yang berkontak dengan solut juga meningkat. Hal ini menghasilkan interaksi intermolekuler antara CO₂ dan solut yang lebih baik. Dengan demikian kelarutan solut akan meningkat sehingga perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak menjadi lebih tinggi.

1.6 Tujuan Penelitian

1. Mempelajari pengaruh penggunaan *co-solvent* polar terhadap perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak.
2. Mempelajari pengaruh besarnya tekanan operasi terhadap perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak.
3. Mempelajari pengaruh besarnya laju alir CO₂ terhadap perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak.

1.7 Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, antara lain:

1. Bagi industri

Penelitian ini diharapkan dapat membantu perkembangan proses ekstraksi C-PC dari mikroalga *Arthospira platensis* yang dapat dijadikan *fine chemicals* yang memiliki nilai jual.

2. Bagi pemerintah

Penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan untuk memanfaatkan sumber daya alam hayati kelautan non perikanan dan sumber daya manusia yang ada Indonesia.

3. Bagi masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberi wawasan baru mengenai sumber C-PC yang berguna bagi kesehatan dan dapat dijadikan sumber penghasilan oleh masyarakat.

4. Bagi peneliti

Penelitian ini diharapkan dapat memberi pengetahuan baru mengenai pengaruh *pre-treatment*, tekanan operasi, serta penggunaan *co-solvent*, terhadap perolehan C-PC, serta perolehan dan aktivitas antioksidan ekstrak.

Tabel 1.2 Tabel Premis

Massa mikroalga	Co-solvents	Tekanan (MPa)	Temperatur (°C)	Laju alir CO ₂ (mL/min)	Waktu Ekstraksi (min)	Kondisi optimum	Perolehan C-PC (%)	Aktivitas antioksidan	Definisi perolehan	Literatur
100 µL (<i>A. maxima</i> , <i>dried</i>)	- etanol (10 %)	30	60	1	-	30 MPa; 60 °C; S/F tertinggi	14,85 (feed 6,55 %; residu 8,3 %) 15,48 (feed 6,99 %; residu 8,49 %)	-	rasio antara jumlah <i>phycocyanin</i> dalam ekstrak dan jumlah total <i>phycocyanin</i> dalam sampel	Valderrama et al., 2003
15 g (<i>dried</i>) (<i>A. maxima</i>)	-	24,13; 31,03; 37,92	40, 50, 60	4,145 4,656	60, 90, 120	24,13 MPa; 40 °C; 60 min; mode <i>static</i> 24,13 MPa; 60 °C; 60 min; mode <i>static</i>	111 % (93,53 mg/g) -	259,61 µmol trolox/mg 320,53 µmol trolox/mg	-	Dejsungkranont et al., 2017
30 g (<i>dried</i>)	- etanol (10 %, 15 % etanol terhadap CO ₂)	15, 25, 35	50, 60, 80	12,714	40, 60, 90, 120	25 MPa; 60 °C; 45 min konsentras i <i>co-solvent</i> 10%; 25 MPa; 60 °C; 45 min	51,9 (65,62 mg/g) 90,74 (114,73 mg/g)	- IC ₅₀ 26,82 µg/mL	rasio konsentrasi <i>phycocyanin</i> (mg/mL) dalam ekstrak terhadap konsentrasi <i>phycocyanin</i> pada umpan	Deniz et al., 2016