



## Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir (Telaah Literatur)

### Various Carotenoid Extraction Methods from Sources of Plants in Recent Decade (Review Paper)

Hana Susanti Maleta<sup>1</sup>, Renny Indrawati<sup>1,2\*</sup>, Leenawaty Limantara<sup>3</sup>, Tatas Hardo Panintingjati Brotosudarmo<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Ma Chung Research Center for Photosynthetic Pigments, Universitas Ma Chung, Malang

<sup>2</sup> Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Ma Chung, Malang

<sup>3</sup> Center for Urban Studies, Universitas Pembangunan Jaya, Tangerang Selatan

\*Email: [renny.indrawati@machung.ac.id](mailto:renny.indrawati@machung.ac.id)

Terima draft : 27 Februari 2018; Terima draft revisi: 24 April 2018; Disetujui : 16 Mei 2018

#### Abstrak

Karotenoid adalah pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah. Karotenoid merupakan pigmen pendamping klorofil atau zat hijau daun yang menjalankan fungsi penyerapan energi cahaya untuk fotosintesis. Sumber karotenoid utama adalah tumbuhan, yang selanjutnya dikonsumsi dan dimetabolisme atau terakumulasi dalam tubuh hewan. Terdapat lebih dari 3000 jenis karotenoid, dan beberapa jenis telah diketahui memiliki manfaat bagi kesehatan. Beberapa studi menyebutkan karotenoid berfungsi sebagai antioksidan, antikanker, dan membantu memelihara kesehatan mata. Ekstrak karotenoid telah diaplikasikan dalam berbagai produk pangan dan produk nutrasetikal. Saat ini, prospek pemanfaatan karotenoid sebagai pewarna alami dan produk nutrasetikal sudah sangat berkembang. Dengan demikian, perkembangan teknologi metode ekstraksi karotenoid menjadi penting untuk diikuti. Ekstraksi karotenoid dilakukan dengan metode konvensional seperti maserasi ataupun modern seperti cairan superkritis, *ultrasound assisted extraction*, enzimatis, *pulsed electric field*, dan *pressurized liquid extraction*. Sejumlah studi metode ekstraksi karotenoid dalam dekade terakhir disajikan dan dibahas dalam review berikut.

Kata kunci: karotenoid, metode ekstraksi, nutrasetikal, prospek, review

#### Abstract

Carotenoids are the group of natural pigments which exhibit yellow, orange to red color on both plants and animals. They belong to the accessory pigments which support the function of chlorophyll to capture the light energy during photosynthesis. Plants are responsible for the biosynthesis of carotenoids, furthermore these substances are consumed and metabolized or accumulated in animal bodies. There are more than 3000 types of carotenoids found in nature, and some are well-known due to their health benefits, such as antioxidant, anticancer, and supporting eye health. The carotenoids extract have been applied in many kinds of processed food as well as nutraceutical products. Currently, the prospects of utilizing carotenoids as a natural dye and nutraceutical product has been highly developed. Hence, the development of extraction methods of carotenoids become important and interesting to be followed. The extraction procedure could be accomplished through either conventional (maceration) methods or the modern ones, i.e. supercritical fluid, ultrasound-assisted, enzymatic, pulsed electric field, and pressurized liquid extraction. Here, a number of studies in carotenoid extraction during the last decade were reviewed and briefly discussed.

Keywords: carotenoids, extraction methods, nutraceutical, prospects, review

#### 1. Pendahuluan

Produsen makanan dan minuman kerap menggunakan pewarna sintetis untuk menggantikan dan mengembalikan warna produk pangan yang memudar selama proses produksi, meningkatkan kualitas warna produk pangan, dan menarik minat konsumen untuk membeli (Gaddam, 2014).

Namun, penggunaan pewarna sintetis ini dapat membahayakan kesehatan karena dapat menyebabkan alergi, asma, dan penyakit lainnya. Pewarna sintetis yang sering digunakan misalnya tartrazine (kuning) dan eritrosin (merah) (Abdulmumeen dkk., 2012). Semakin berkembangnya zaman, kesadaran masyarakat akan kesehatan yang semakin

meningkat membuat permintaan akan pewarna makanan alami semakin tinggi. Salah satu pewarna alami berasal dari senyawa karotenoid. Karotenoid ini memberikan warna kuning, jingga hingga merah pada bahan pangan. Karotenoid memiliki beberapa jenis diantaranya  $\alpha$ -karoten,  $\beta$ -karoten, astasantin, likopen, lutein, zeasantin,  $\beta$ -kriptosantin, dan fukosantin (Takaichi, 2013; Wrolstad dan Culver, 2012; Amaya, 2016). Senyawa-senyawa tersebut memberikan beberapa fungsi kesehatan bagi tubuh. Secara garis besar, karotenoid memiliki fungsi sebagai antioksidan yang dapat melindungi tubuh dari radikal bebas. Banyaknya fungsi karotenoid bagi kesehatan membuat karotenoid juga diaplikasikan menjadi produk nutrasetikal. Karotenoid secara luas terdapat dalam buah-buahan dan sayur-sayuran dengan potensi aktivitas antikanker.

Pigmen karotenoid dapat diambil dari sumbernya, tumbuhan tingkat tinggi ataupun alga, dengan cara diekstrak. Terdapat beberapa metode ekstraksi mulai dari metode konvensional hingga modern. Metode-metode tersebut memiliki kelebihan dan kelemahan masing-masing. Oleh karena itu, semakin berkembangnya zaman terdapat metode-metode ekstraksi yang efektif dan efisien untuk mengekstrak pigmen dari bahan. Metode tersebut kemudian dapat diterapkan untuk mengekstrak pigmen alami karotenoid.

Dalam dekade terakhir telah terjadi peningkatan jumlah studi dan ragam metode ekstraksi karotenoid dari berbagai sumber alam khususnya sumber dari tumbuhan, menunjukkan besarnya potensi eksplorasi yang masih akan terus meningkat. Tujuan ulasan ini adalah untuk menjadi dasar dalam memilih metode ekstraksi baik metode konvensional maupun modern yang efektif dan efisien dalam mengekstrak kandungan karotenoid dari berbagai sumber tumbuh-tumbuhan.

## 2. Jenis-jenis dan Fungsi Karotenoid

Karotenoid merupakan rantai polyene panjang yang memiliki 35-40 atom karbon, rantai polyene tersebut yang bertanggung jawab dalam fungsinya sebagai antioksidan pada karotenoid (Chandi dan Gill, 2011). Karotenoid juga memiliki sifat yang mudah rusak atau terdegradasi yang disebabkan oleh cahaya, panas, dan oksigen sehingga kandungan karotenoid dalam bahan akan menurun (Mertz dkk., 2010).

**Tabel 1.** Fungsi pada Beberapa Jenis Karotenoid

Jenis Karotenoid	Fungsi
Astasantin (Bishop, Zubeck, 2012; Tominaga dkk., 2012)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Anti-oksidatif (Bishop, Zubeck, 2012)</li> <li>2. Anti-kanker</li> <li>3. Anti-inflamasi</li> <li>4. Anti-bakteri</li> <li>5. Untuk kesehatan mata</li> <li>6. Untuk pencegahan dan pengobatan kerusakan saraf yang terkait dengan <i>age-related macular degeneration</i> (AMD)</li> <li>7. Untuk mengobati penyakit Alzheimer, penyakit Parkinson, kerusakan tulang belakang, dan cedera system saraf pusat</li> <li>8. Memperbaiki kerutan, elastisitas, dan tekstur pada kulit wajah</li> </ol>
Fukosantin (Takaichi, 2013)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Antioksidan</li> <li>2. Anti-kanker</li> <li>3. Anti-obesitas</li> </ol>
$\beta$ -karoten (Sugitha dkk., 2015; Gloria dkk., 2014; Abbas, Akladious, 2013)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Untuk menurunkan kenaikan gula darah</li> <li>2. Antioksidan</li> <li>3. Mengurangi stress oksidatif</li> <li>4. Menghambat proliferasi sel</li> <li>5. Menurunkan resiko kanker</li> <li>6. Untuk melindungi klorofil dari kerusakan foto-oksidatif selama proses fotosintesis</li> </ol>
Likopen (Gloria dkk., 2014; Ramadhian, Hasibuan, 2016)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Untuk menurunkan tekanan darah</li> <li>2. Mengurangi stress oksidatif</li> <li>3. Untuk menurunkan kolesterol</li> <li>4. Menghambat proliferasi sel</li> <li>5. Meningkatkan apoptosis pada sel kanker</li> </ol>
Lutein dan Zeasantin (Johnson, 2012; Nwachukwu dkk., 2012)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Antioksidan</li> <li>2. Anti-inflamasi</li> <li>3. Untuk fungsi kognitif pada orang tua</li> <li>4. Untuk kesehatan mata</li> </ol>
$\beta$ -kriptosantin (Burri dkk., 2016)	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Menurunkan resiko penyakit degeneratif dan kanker</li> <li>2. Membantu memperlambat osteoporosis</li> </ol>

Terdapat 600 jenis karotenoid yang telah teridentifikasi (Wahidah, 2012), akan tetapi baru sejumlah kecil yang telah teridentifikasi dengan baik dan yang telah diteliti manfaatnya bagi kesehatan (Tabel 1). Karotenoid berfungsi sebagai prekursor vitamin A dan antioksidan. Selain dalam bidang kesehatan, karotenoid juga berfungsi sebagai pewarna alami pada produk pangan dan untuk industri kosmetik. Dalam tumbuhan, karotenoid berfungsi sebagai fotoprotektor yang bekerja untuk mencegah kerusakan akibat fotooksidasi karena klorofil akan mengalami fotooksidasi jika terkena cahaya. Karotenoid dapat mencegah terbentuknya triplet klorofil (klorofil berikatan dengan oksigen) sehingga tidak dapat menghasilkan oksigen tunggal karena oksigen tunggal merupakan oksidan kuat yang akan mengoksidasi klorofil. Sistem fotosintesis pada tumbuhan kemudian menginspirasi pembentukan *dye-sensitized* solar cell untuk bidang energi terbarukan (Kusumaningrum dan Zainuri, 2013).

### 3. Metode Ekstraksi Karotenoid

Karotenoid dapat diaplikasikan sebagai pewarna makanan alami dan produk nutrasetikal. Sebelum diaplikasikan sebagai pewarna makanan dan produk nutrasetikal, karotenoid di ekstraksi terlebih dahulu. Metode ekstraksi karotenoid dilakukan secara efektif dan aman dalam penerapannya sebagai pewarna alami makanan. Terdapat beberapa metode ekstraksi pigmen karotenoid yang akan dibahas pada bagian ini.

#### 3.1. Metode ekstraksi maserasi

Metode ini menggunakan pelarut yang akan berdifusi masuk kedalam sel bahan yang selanjutnya senyawa aktif akan keluar akibat dari tekanan osmosis, biasanya juga dilakukan pengadukan dan pemanasan untuk mempercepat proses ekstraksi. Pelarut yang sering digunakan yaitu aseton dan etanol. Keuntungan metode ini yaitu sederhana, mudah, dan biaya yang murah (Ginting, 2013). Kekurangan metode ini adalah membutuhkan waktu yang lama dalam ekstraksi. Selain itu, rendemen yang dihasilkan tidak bebas dari pelarut organik (Putra dkk., 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Putra dkk. (2014) bonggol pisang yang diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut *n*-heksana menghasilkan rendemen sebesar 1,16% sedangkan rendemen metode konvensional lainnya seperti refluks dan sokletasi yang masing-

masing sebesar 1,04% dan 0,56%. Parameter penting metode ini adalah suhu ekstraksi dan kecepatan pengadukan. Semakin tinggi suhu dan kecepatan pengadukan yang tinggi dapat mempercepat pelarut untuk berpenetrasi ke dalam bahan dan kontak dengan bahan, tetapi suhu yang terlalu tinggi juga dapat merusak komponen bioaktif bahan (karotenoid).

#### 3.2. Metode ekstraksi cairan superkritis

Metode ini menggunakan cairan superkritis yang memiliki karakteristik viskositas yang rendah dan difusivitas yang relatif tinggi. Keuntungan metode ini adalah menggunakan pelarut yang aman atau *generally recognized as safe* (GRAS), rendemen yang dihasilkan tinggi, dan waktu ekstraksi yang singkat. Salah satu pelarut yang sering digunakan dalam metode ini yaitu CO<sub>2</sub> cair karena memiliki suhu kritis yang sedang (31,3°C) dan tekanan (72,9 atm). Keuntungan menggunakan CO<sub>2</sub> cair adalah hasil ekstraksi yang bebas dari pelarut (Herero dkk., 2006). Kekurangan metode ini adalah pelarut CO<sub>2</sub> yang digunakan bersifat non-polar, sehingga apabila mengekstraksi bahan yang bersifat polar diperlukan penambahan co-solvent seperti etanol pada pelarut CO<sub>2</sub>. Dalam ekstraksi karotenoid, penambahan co-solvent seperti *olive oil* dapat menghasilkan rendemen yang tinggi (Wijngaard dkk., 2012). Parameter utama yang dapat mempengaruhi ekstraksi dengan metode cairan superkritis yaitu rasio pelarut dengan bahan, ukuran partikel bahan, suhu ekstraksi, tekanan, waktu ekstraksi, dan CO<sub>2</sub> *flow rate*. Penelitian yang dilakukan oleh Shi dkk. (2009) ekstraksi kulit tomat pada kondisi ekstraksi tekanan 35 MPa, suhu 75°C, etanol 10% dan minyak zaitun 10% menghasilkan likopen sebesar 73%.

#### 3.3. Metode *ultrasound assisted extraction* (UAE)

Metode ini menggunakan kativasi akustik untuk memproduksi gelembung kativasi untuk menghasilkan gaya gesek yang tinggi. Hal tersebut akan membantu merusak dinding sel sehingga pelarut dapat masuk kedalam bahan dan meningkatkan kontak antara pelarut dengan senyawa yang akan di ekstraksi. Keuntungan metode ini adalah dapat meningkatkan hasil ekstraksi, waktu ekstraksi yang singkat, menggunakan suhu rendah, dan volume pelarut yang sedikit (Dye dan Rathod, 2013). Sedangkan, kekurangan metode ini adalah membutuhkan energi dan biaya yang besar. Rendemen yang dihasilkan

dengan menggunakan metode ini lebih tinggi dibandingkan dengan menggunakan metode konvensional (Rostagno dan Prado, 2013). Penelitian yang dilakukan oleh Dey dan Rathod (2013) hasil maksimum ekstraksi  $\beta$ -karoten dari *Spirulina platensis* yaitu sebesar 47,10%. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan *ultrasound assisted extraction* yaitu ukuran partikel, jenis pelarut, rasio pelarut dengan bahan, suhu, lama waktu ekstraksi, intensitas akustik, ketinggian sampel (dalam bentuk cair), dan siklus dari paparan gelombang ultrasonik (Wijngaard dkk., 2012). Proses ekstraksi dengan gelombang ultrasonik yang terlalu kuat dapat menyebabkan kerusakan pigmen (Sun dkk., 2011).

### 3.4. Metode ekstraksi *pulsed electric field* (PEF)

Metode ini menggunakan kejutan listrik sehingga membran sel akan mengalami elektroporasi yang mengakibatkan difusi senyawa yang terdapat di dalam sel. Keuntungan metode ini adalah dilakukan secara non-termal yang tidak mempengaruhi senyawa yang diekstraksi dan waktu ekstraksi yang singkat (Luengo dkk., 2014). Penelitian yang dilakukan Eing dkk. (2013) menunjukkan bahwa bahan yang diperlakukan dengan PEF akan menghasilkan rendemen 4 kali lebih tinggi dibandingkan yang tidak diperlakukan dengan PEF dan jika dibandingkan dengan maserasi enzimatis. Faktor yang mempengaruhi ekstraksi menggunakan *pulsed electric field* adalah kekuatan medan listrik dan lama proses. Faktor-faktor tersebut dapat meningkatkan permeabilitas bahan sehingga senyawa bioaktif dalam bahan dapat dengan mudah terekstrak (Wijngaard dkk., 2012). Kelemahan metode PEF ini adalah penggunaan energi yang cukup tinggi dan umumnya masih berfokus pada sampel cair yang homogen dan bebas dari partikel dan udara (Raso-Pueyo dan Heinz, 2010).

### 3.5. Metode ekstraksi enzimatis

Metode ini menggunakan bantuan enzim untuk mengekstraksi senyawa karotenoid yang ada di dalam bahan. Enzim yang biasa digunakan yaitu enzim selulase, pektinase, dan hemiselulase. Enzim-enzim tersebut akan merusak dinding sel bahan, sehingga senyawa bioaktif dapat keluar dari bahan. Keuntungan menggunakan metode ini adalah tidak menggunakan pelarut yang banyak, mendapatkan hasil ekstraksi yang tinggi, dan ramah lingkungan karena konsumsi energi

yang rendah (Puri dkk., 2012). Kelemahan metode ini adalah proses inkubasi yang membutuhkan waktu lama (Lindah dkk., 2013). Rendemen yang dihasilkan dengan perlakuan enzimatis 36% lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa perlakuan enzimatis (Naidu dan Sowbhagya, 2012). Perlakuan enzimatis pada bunga marigold menggunakan enzim hidrolitik dapat meningkatkan koefisien difusi dari  $1,56 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$  menjadi  $4,02 \times 10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$ , koefisien transfer massa dari  $0,14 \text{ h}^{-1}$  menjadi  $0,36 \text{ h}^{-1}$ , meningkatkan *dry yield* dan pigmen karotenoid dibandingkan dengan ekstraksi konvensional menggunakan pelarut (Sowbhagya dkk., 2013). Faktor yang mempengaruhi metode ini adalah pH dan suhu ekstraksi (Lindah dkk., 2013). pH dan suhu yang digunakan disesuaikan dengan kondisi optimum enzim yang digunakan.

### 3.6. Metode *pressurized liquid extraction* (PLE)

Metode ini menggunakan bantuan pelarut dengan tekanan tinggi dan dilakukan pada suhu tinggi untuk mengekstraksi senyawa yang ada di dalam bahan. Keuntungan menggunakan metode ini adalah penggunaan pelarut sedikit, durasi ekstraksi singkat, dan hasil ekstraksi yang banyak (Kim dkk., 2012). Kelemahan metode ini adalah menggunakan suhu yang sangat tinggi untuk ekstraksi, sehingga menghasilkan senyawa-senyawa yang tidak diinginkan (Wijngaard dkk., 2012). PLE menghasilkan *yield* karotenoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan metode konvensional seperti metode Soxhlet dan perkolasi. Penelitian yang dilakukan oleh Cardenas-Toro dkk. (2015) menunjukkan bahwa ekstraksi kelapa sawit dengan metode PLE menghasilkan  $\alpha$ -karoten sebesar  $305 \mu\text{g/g}$ , sedangkan metode Soxhlet menghasilkan  $\alpha$ -karoten sebesar  $142 \mu\text{g/g}$ . Metode *pressurized liquid extraction* ini juga memiliki selektivitas terhadap karotenoid (Cardenas-Toro dkk., 2015). Parameter utama metode *pressurized liquid extraction* adalah tekanan, suhu, lama ekstraksi, dan *flow rate* (Wijngaard dkk., 2012).

### 3.7. Metode *microwave assisted extraction* (MAE)

Metode ini menggunakan bantuan gelombang mikro untuk mengekstrak senyawa di dalam bahan. Panas yang ditimbulkan oleh radiasi gelombang mikro akan mengakibatkan tekanan di dalam bahan meningkat sehingga dinding sel akan rusak yang menyebabkan senyawa berpindah dari bahan ke pelarut

ekstraksi. Keuntungan metode ini yaitu waktu ekstraksi yang singkat, jumlah pelarut yang digunakan sedikit, dan mendapatkan hasil ekstraksi yang tinggi. Kelemahan metode ini adalah pemanasan yang tidak merata selama ekstraksi (Zhao dkk., 2011). Penelitian yang dilakukan oleh Hiranvarachat dan Devahastin (2014) menunjukkan bahwa ekstraksi kulit wortel dengan menggunakan metode MAE pada kondisi 180 W/75 ml pelarut dan 300 W/150 ml pelarut menghasilkan kandungan  $\beta$ -karoten yang paling maksimum yaitu masing-masing sebesar 126 mg/100 gr (d.b) dan 136 mg/100 g (d.b). Metode ini menghasilkan ekstrak karotenoid yang besar

(Hiranvarachat dan Devahastin, 2014). Parameter yang mempengaruhi ekstraksi dengan metode ini yaitu energi gelombang mikro yang digunakan, waktu ekstraksi, dan suhu ekstraksi (Wijngaard dkk., 2012).

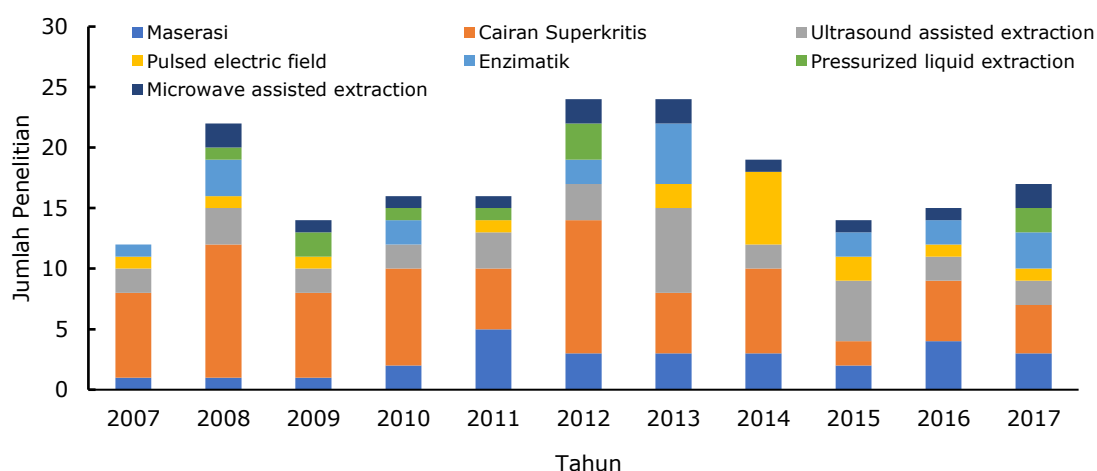
Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi karotenoid adalah pelarut organik atau pelarut non-polar. Hal tersebut dikarenakan karotenoid bersifat intraselular dan sangat hidrofobik. Sebagai pewarna alami, karotenoid dapat diaplikasikan pada makanan dan kosmetik. Berikut merupakan metode ekstraksi dan jenis karotenoid yang di ekstrak dari berbagai sumber.

**Tabel 2.** Suhu dan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi karotenoid pada berbagai sumber dan metode:  
\* = skala laboratorium; \*\* = skala pilot plant

Metode	Jenis Karotenoid	Sumber	T (°C)	Pelarut	Referensi	
Maserasi	$\beta$ -karoten	Ubi jalar jingga	<i>ambient</i>	Etanol Aseton	Ginting, 2013*	
		Cabai	<i>ambient</i>	Heksana: aseton: etanol	Octaviani dkk., 2014*	
		<i>Porphyridium cruentum</i>	<i>ambient</i>	Aseton	Hapsari dkk., 2012*	
	Likopen	Tomat	<i>ambient</i>	Aseton: heksana: etanol (1:2:1)	Hasri, 2015*	
		<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	23	Etanol Aseton	Kim dkk., 2012**	
	Fukosantin	<i>Sargassum sp.</i>	18	Hexane Etil asetat	Renhoran dkk., 2017*	
		Likopen	Tomat	31,3	CO <sub>2</sub> cair	Herero dkk., 2006*
	Cairan superkritis	$\beta$ -karoten	Tomat	90	CO <sub>2</sub> cair	Machmudah dkk., 2012*
				31,3	CO <sub>2</sub> cair	Herero dkk., 2006*
		Astasantin	<i>Haematococcus pluvialis</i>	65	CO <sub>2</sub> cair Etanol (co-solvent)	Wang dkk., 2012*
50				CO <sub>2</sub> cair	Pan dkk., 2012*	
Lutein		<i>Scenedesmus</i>	55	Etanol	Reyes dkk., 2014*	
			70	13% etanol dalam CO <sub>2</sub> CO <sub>2</sub> cair	Yen dkk., 2012*	
Fukosantin		<i>Saccarina japonica</i>	50,62	Etanol (co-solvent) CO <sub>2</sub> cair	Saravana dkk., 2017*	
Ultrasound assisted extraction		$\beta$ -karoten	<i>Spirulina platensis</i>	30	Sun flower oil (co-solvent)	Dye, Rathod, 2013*
	<i>Haematococcus pluvialis</i>		40	<i>n</i> -heptane	Hadiyanto dkk., 2015*	
	Astasantin	<i>Haematococcus pluvialis</i>	41,1	Etanol 96%	Zou dkk., 2013*	
Ultrasound assisted extraction	Likopen	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	<i>ambient</i>	48% etanol dalam etil asetat Etanol	Kim dkk., 2012*	
		<i>Citrus paradise</i> Macf.	30	Petroleum eter : aseton : etanol 95% (2:1:1) dengan 2% diklorometan dan 0,05% BHT	Xu, Pan, 2013*	
		Tomat	25	95% etanol : aseton : petroleum eter	Liao dkk., 2016*	

**Tabel 2.** Suhu dan pelarut yang digunakan untuk ekstraksi karotenoid pada berbagai sumber dan metode:  
\* = skala laboratorium; \*\* = skala pilot plant (*Sambungan*)

Metode	Jenis Karotenoid	Sumber	T (°C)	Pelarut	Referensi
Pulsed electric field	Lutein	<i>Chlorella vulgaris</i>	37,7	(1:1:2) dengan 0,05% BHT dan 2% diklorometan Etanol 90%	Deenu dkk., 2013*
	Likopen	Tomat		Heksan: Etanol: Aseton (50:25:25)	Luengo dkk., 2014**
	β-karoten Lutein	Wortel <i>Chlorella vulgaris</i>	25	Minyak nabati Etanol	Roohinejad dkk., 2014* Luengo dkk., 2015*
	Lutein	Bunga marigold	24-25	Viscozyme Pectinex Neutrase Corolase HT-Proteolytic	Barzana dkk., 2002**
Enzimatik	Likopen	Tomat	25	Selulase Pektinase	Kaimainen dkk., 2015*
	Likopen dan β-karoten	Kulit Tomat	40	Cellulase Pektinase	Ranveer dkk., 2013*
Pressurized liquid extraction	Fukosantin	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	100 50	Selulase Poligalakturonase	Leyva-López dkk., 2017*
	Zeasantin	<i>Chlorella ellipsoidea</i>	115,4	Etanol Etanol	Kim dkk., 2012** Gilbert-López dkk., 2017*
	β-karoten	Wortel		Isopropa-nol 50% heksana 25% aseton 25% etanol	Koo dkk., 2012* Hiranvarachat, Devahastin, 2014* Hiranvarachat dkk., 2013*
Microwave assisted extraction	β-karoten	<i>Arthrospira platensis</i> (cyanobacteria)	50 & 70	Metanol : Etil asetat : Light petroleum (1:1:1)	Esquivel-Hernández dkk., 2016*
	Likopen	Kulit Tomat		Etil Asetat	Ho dkk., 2015*



**Gambar 1.** Jumlah perkembangan penelitian metode ekstraksi karotenoid

Dari sejumlah laporan penelitian yang dipublikasikan, sebagian besar metode ekstraksi telah teruji coba pada skala laboratorium. Metode ekstraksi skala *pilot plant* yang telah dilaporkan antara lain adalah untuk ekstraksi fukosantin dari *Phaeodactylum tricornutum* dengan metode maserasi dan *pressurized liquid extraction* (Kim dkk., 2012), likopen dari tomat dengan metode *pulsed electric field* (Luengo dkk., 2014), dan lutein dari bunga marigold dengan metode enzimatik (Barzana dkk., 2002). Sedangkan jika ditinjau dari waktu, sebaran jumlah publikasi riset yang melibatkan ragam metode ekstraksi karotenoid selama periode 2007 – 2017 adalah sebagaimana digambarkan pada Gambar 1.

Dalam dekade terakhir, jumlah publikasi penelitian mengenai ragam metode ekstraksi karotenoid mengalami perkembangan dan fluktuasi. Grafik di atas menunjukkan bahwa selama sepuluh tahun terakhir, metode ekstraksi yang sering digunakan untuk mengekstraksi karotenoid adalah metode cairan superkritis, yaitu sekitar 37,31% dari jumlah total keseluruhan metode. Penelitian pada tahun 2008 dan 2012 merupakan penelitian yang paling banyak menggunakan metode cairan superkritis. Metode kedua yang paling banyak digunakan untuk mengekstraksi karotenoid yaitu *ultrasound assisted extraction*. Sekitar 17,10% dari jumlah total keseluruhan metode, penelitian menggunakan metode *ultrasound assisted extraction*. Penelitian pada tahun 2013 dan 2015 merupakan penelitian yang paling banyak menggunakan metode *ultrasound assisted extraction*. Secara keseluruhan, berbagai metode ekstraksi karotenoid masih dipertahankan selama dekade terakhir, menunjukkan bahwa tiap metode memiliki keunggulan yang belum bisa mendominasi metode lainnya.

#### 4. Prospek

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia dengan tiga per empat wilayahnya adalah laut. Wilayah Indonesia yang luas dan paparan cahaya matahari sepanjang tahun menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara megabiodiversitas daratan maupun laut. Tumbuhan merupakan produsen utama karotenoid, meskipun karotenoid juga dapat dijumpai pada hewan. Terdapat berbagai keragaman hayati di Indonesia berpotensi sebagai sumber karotenoid, diantaranya yaitu wortel, ubi jalar jingga, tomat, labu kuning, mikroalga, buah merah dan durian merah.

Dewasa ini penggunaan pewarna sintetik sudah mulai digantikan dengan pewarna alami. Pewarna alami telah menarik banyak perhatian beberapa tahun terakhir ini, bukan hanya sifatnya sebagai pemberi warna pada bahan tapi juga efeknya bagi kesehatan. Di negara-negara maju seperti Eropa penggunaan pewarna sudah mengarah pada pewarna alami karena penggunaan pewarna sintetik berhubungan dengan hiperaktif pada anak-anak. Saat ini lebih dari 90% produk pangan di Eropa telah menggunakan pewarna alami (Houlton, 2016). Berpindah dari pewarna sintetik yang lebih stabil ke pewarna alami yang memiliki bermacam-macam karakteristik merupakan suatu tantangan tersendiri. Karotenoid ini mudah rusak pada suhu tinggi dan jika terkena paparan cahaya. Pada proses produksi makanan yang menggunakan suhu tinggi dan kemasan produk yang transparan dapat merusak karotenoid. Oleh karena itu karotenoid dilindungi dengan proses enkapsulasi agar lebih stabil (Rocha dkk., 2012). Pewarna alami telah disetujui oleh EU (European Union), FDA (Food and Drug Administration), dan WHO (Ginting, 2013).

Eksraksi karotenoid juga penting untuk industri nutrasetikal yang saat ini sedang berkembang (Koo dkk., 2012). Hal tersebut karena karotenoid memiliki fungsi sebagai antioksidan dan memberikan efek bagi kesehatan. Untuk diterapkan pada produk nutrasetikal, karotenoid dienkapsulasi dan dikeringkan dengan menggunakan *spray drying* (Murugesan dan Orsat 2012). Lutein dan zeasantin merupakan jenis karotenoid yang berpotensi untuk aplikasi nutrasetikal. Lutein dan zeasantin berfungsi untuk melindungi mata dan kulit dari kerusakan. Selama ini produk lutein dipasarkan dalam bentuk sediaan kapsul atau suplemen makanan untuk memberikan nutrisi pada mata. Produksi suplemen astasantin saat ini juga sangat berkembang, terdapat dalam sediaan kapsul, krim, tablet, bubuk, dan minuman berenergi. Saat ini, produk astasantin sudah banyak dipasaran sebagai contoh merek Astaxanthin Gold™, Best Astaxanthin, dan AstaREAL (Ambati dkk., 2014). Oleh karena itu, produksi suplemen astasantin akan terus berkembang karena saat ini masyarakat berfokus terhadap kesehatan. Potensi karotenoid sebagai nutrasetikal pada tahun-tahun ke depan akan semakin menguntungkan karena masyarakat saat ini sangat memperhatikan kesehatan (Shegokar dan Mitri, 2012).

## 5. Kesimpulan

Karotenoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan dan dapat dimanfaatkan sebagai pewarna alami bahan pangan serta nutrasetikal. Ekstraksi pigmen karotenoid dapat dilakukan secara konvensional dan modern, yaitu maserasi, cairan superkritis, *ultrasound assisted extraction*, *pulsed electric field*, enzimatis, *pressurized liquid extraction*, dan *microwave assisted extraction*. Dalam 10 tahun terakhir, metode yang relatif paling banyak dipublikasi yaitu metode ekstraksi cairan superkritis. Metode cairan superkritis juga merupakan metode yang terbaik untuk mengekstraksi karotenoid. Metode ekstraksi secara modern lebih efektif dan efisien dibandingkan dengan metode konvensional, namun tidak selalu dapat mengungguli, misalnya dari aspek waktu ekstraksi yang singkat, penggunaan pelarut yang lebih sedikit, hasil ekstraksi yang maksimum, dan preparasi proses ekstraksi yang sederhana, sehingga berbagai metode ekstraksi masih diterapkan hingga saat ini. Peluang eksplorasi dan investigasi masih terbuka luas untuk pemanfaatan karotenoid di Indonesia, dan melalui metode ekstraksi yang sesuai dengan jenis sumber pigmen, tingkat kesiapan teknologi, serta tujuan aplikasinya.

## Ucapan Terima Kasih

Karya ilmiah ini merupakan bagian tak terpisahkan dari kegiatan penelitian yang didanai oleh Kementerian Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi melalui program Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional (SINas), skema Riset Pratama Individu (IRPI) tahun 2016-2018, yang diterima oleh Renny Indrawati.

## Daftar Pustaka

- Abbas, S.M., Akladios, S.A. (2013) Application of carrot root extract induced salinity tolerance in cowpea (*Vigna sinensis* L.) seedlings, *Pak. J. Bot.*, 45, 795 – 806.
- Abdulmumeen, H. A., Risikat, A. N., Sururah, A. R. (2012) Food: Its preservatives, additives, and applications, *International Journal of Chemical and Biochemical Science*, 1, 36 – 47.
- Amaya, D. B. R. (2016) Natural food pigments and colorants, *Current Opinion in Food Science*, 7, 20 – 26.
- Ambati, R.R., Moi, P.S., Ravi, S., Aswathanarayana, R.G. (2014) Astaxanthin: source, extraction, stability, biological activities and its commercial applications – A review, *Mar. Drugs*, 12, 128 – 152.
- Barzana, E., Rubio, D., Santamaria, R. I., Garcia-Correa, O., Garcia, F., Sanz, V. E. R., López-Munguía, A. (2002) Enzyme-mediated solvent extraction of carotenoids from marigold flower (*Tagetes erecta*), *J.Agric. Food Chem.*, 50, 4491 – 4496.
- Bishop, W. M., Zubeck, H. M. (2012) Evaluation of microalgae for use as nutraceuticals and nutritional supplement, *J Nutr Food Sci.*, 2, 147.
- Burri, B. J., La Frano, M. R., Zhu, C. (2016) Absorption, metabolism, and functions of  $\beta$ -cryptoxanthin, *Nutrition Reviews*, 74, 69 – 82.
- Cardenas-Toro, F. P., Alcázar-Alay, S. C., Coutinho, J. P., Godoy, H. T., Forster-Carneiro, T., Meireles, M. A. A., (2015) Pressurized liquid extraction and low-pressure solvent extraction of carotenoids from pressed palm fiber: Experimental and economical evaluation, *Food and Bioproducts Processing*, 94, 90 – 100.
- Chandi, G. K., Gill, B. S. (2011) Production and characterization of microbial carotenoids as an alternative to synthetic colors: A review, *International Journal of Food Properties*, 14, 503 – 513.
- Deenu, A., Naruenartwongsakul, S., Kim, S. M. (2013) Optimization and economic evaluation of ultrasound of lutein from *Chlorella vulgaris*, *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 18, 1151 – 1162.
- Dey, S., Rathod, V.K. (2013) Ultrasound assisted extraction of  $\beta$ -carotene from *Spirulina platensis*, *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 271 – 276.
- Eing, C., Goettel, M., Straessner, R., Gusbeth, C., Frey, W. (2013) Pulsed electric field treatment of microalgae-benefits for microalgae biomass processing, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 41, 2901 – 2907.



- Esquivel-Hernández, D. A., López, V. H., Rodríguez-Rodríguez, J., Alemán-Nava, G. S., Cuéllar-Bermúdez, S. P., Rostro-Alanis, M., Parra-Saldívar, R. (2016) Supercritical carbon dioxide and microwave-assisted extraction of functional lipophilic compounds from *Arthrospira platensis*, *Int. J. Mol. Sci.*, 17.
- Gaddam, C. L. (2014) Food coloring: The natural way, *Research Journal of Chemical Science*, 4, 87 – 96.
- Gilbert-López, B., Barranco, A., Herrero, M., Cifuentes, A., Ibañez, E. (2017) Development of new green processes for the recovery of bioactives from *Phaeodactylum tricornutum*, *Food Research International*, 99, 1056 – 1065.
- Ginting, E. (2013) Carotenoid extraction of orange-fleshed sweet potato and its application as natural food colorant, *J. Teknol. dan Industri Pangan*, 24.
- Gloria, N. F., Soares, N., Brand, C., Oliveira, F. L., Borojevic, R., Teodoro, A. J. (2014) Lycopene and beta-carotene induce cell-cycle arrest and apoptosis in human breast cancer cell lines, *Anticancer Research*, 34, 1377 – 1386.
- Hadiyanto, H., Marsya, M. A., Fatkhiyatul, P. (2015) Improved yield of  $\beta$ -carotene from microalgae *Spirulina platensis* using ultrasound assisted extraction, *Jurnal Teknologi*, 77, 219 – 222.
- Hapsari, T. D., Agustini, T. W., Cahyono, B. (2012) Analisis kimia dan fisik komponen  $\beta$ -karoten dalam mikroalga *Porphyridium cruentum*, *Prosiding ke-1 Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*, Semarang.
- Hasri (2015) Kandungan likopen buah tomat (*Lycopersicum esculentum l.*) terhadap waktu dan suhu pemanasan, *Jurnal Kimia FMIPA Universitas Negeri Makassar*, 16, 28 – 35.
- Herero, M., Cifuentes, A., Ibañez, E. (2006) Sub- and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae, and microalgae: A review, *Food Chemistry*, 98, 136 – 148.
- Hiranvarachat, B., Devahastin, S. (2014) Enhancement of microwave-assisted extraction via intermittent radiation: Extraction of carotenoids from carrot peels, *Journal of Food Engineering*, 126, 17 – 26.
- Hiranvarachat, B., Devahastin, S., Chiewchan, N., Raghavan, G. S. V. (2013) Structural modification by different pretreatment methods to enhance microwave-assisted extraction of  $\beta$ -carotene from carrots, *Journal of Food Engineering*, 115, 190 – 197.
- Ho, K. K. H. Y., Ferruzzi, M. G., Liceaga, A. M., Martín-González, M. F. S. (2015) Microwave-assisted extraction of lycopene in tomato peels: Effect of extraction condition on all-*trans* and *cis*-isomer yields, *LWT-Food Science and Technology*, 62, 160 – 168.
- Houlton, S (2016) The natural food dye revolution, <https://www.chemistryworld.com/feature/the-natural-food-dye-revolution/9322>, diakses 19 Desember 2017.
- Johnson, E. J. (2012) A possible role for lutein and zeaxanthin in cognitive function in the elderly, *Am J Clin Nutr*, 96, 1161S - 5S.
- Kaimainen, M., Järvenpää, E., Huopalahti, R. (2015) Enzyme-assisted oil extraction of lutein from marigold (*Tagetes erecta*) flowers and stability of lutein during storage, *International Journal of Agricultural & Food Research*, 4.
- Kim, S. M., Jung, Y. J., Kwon, O. N., Cha, K. H., Um, B. H., Chung, D., Pan, C. H. (2012) A potential commercial source of fucoxanthin extracted from the microalga *Phaeodactylum tricornutum*, *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 166, 1843 – 1855.
- Koo, S. Y., Cha, K. H., Song, D. G. (2012) Optimization of pressurized liquid extraction of zeaxanthin from *Chlorella ellipsoidea*, *J Appl Phycol*, 24, 725 – 730.
- Kusumaningrum, H. P., Zainuri, M. (2013) Aplikasi pakan alami kaya karotenoid untuk post larvae *Penaeus monodon* Fab., *ILMU KELAUTAN: Indonesian Journal of Marine Sciences*, 18, 143 – 149.
- Leyva-López, N., Valdez-Torres, B., Delgado-Vargas, F., García-Estrada, R. S., Heredia, J. B. (2017) Optimized

- enzyme-aided extraction enhances recovery of carotenoids from tomato peel and improves the biological activity, *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 8, 721 – 727.
- Liao, J., Zheng, N., Qu, B. (2016) An improved ultrasonic-assisted extraction method by optimizing the ultrasonic frequency for enhancing the extraction efficiency of lycopene from tomatoes, *Food Analytical Methods*, 9, 2288 – 2298.
- Lindahl, S., Liu, J., Khan, S., Karlsson, E. N., Turner, C. (2013) An on-line method for pressurized hot water extraction and enzymatic hydrolysis of quercetin glucosides from onions, *Analytica Chimica Acta*, 785, 50 – 59.
- Luengo, E., Álvarez, I., Raso, J. (2014) Improving carotenoid extraction from tomato waste by pulsed electric fields, *Front Nutr.*, 1, 12.
- Luengo, E., Martínez, J. M., Bordetas, A., Álvarez, I., Raso, J. (2015) Influence of the treatment medium temperature on lutein extraction assisted by pulsed electric fields from *Chlorella vulgaris*, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 29, 15 – 22.
- Machmudah, S., Zakaria, Winardi, S., Sasaki, M., Goto, M., Kusumoto, N., Hayakawa, K. (2012) Lycopene extraction from tomato peel by-product containing tomato seed using supercritical carbon dioxide, *Journal of Food Engineering*, 108, 290 – 296.
- Mertz, C., Brat. P., Caris-Veyrat, C., Gunata, Z. (2010) Characterization and thermal lability of carotenoids and vitamin C of tamarin fruit (*Solanum betaceum* Cav.), *Food Chemistry*, 119, 653 – 659.
- Murugesan, R., Orsat. V. (2012) Spray drying for the production of nutraceutical ingredients – A review, *Food Bioprocess Technol.*, 5, 3 – 14.
- Naidu, M. M., Sowbhagya, H. B., (2012) Technological advances in food colours, *Chemical Industry Digest*, 79 – 88.
- Nwachukwu, I. D., Udenigwe, C. C., Aluko, R. E. (2016) Lutein and zeaxanthin: Production technology, bioavailability, mechanisms of action, visual function, and health claim status, *Trends in Food Science & Technology*, 49, 74 – 84.
- Octaviani, T., Guntarti, A., Susanti, H. (2014) Penetapan kadar  $\beta$ -karoten pada beberapa jenis cabe (genus *Capsicum*) dengan metode spektrofotometri tampak, *Pharmaciana*, 4, 101 – 109.
- Pan, J. L., Wang, H. M., Chen, C. Y., Chang, J. S. (2012) Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* by supercritical carbon dioxide fluid with ethanol modifier, *Engineering in Life Sciences*, 12, 638 – 647.
- Puri, M., Sharma, D., Barrow, C. J. (2012) Enzyme-assisted extraction of bioactives from plants, *Cell Press*, 3, 37 – 44.
- Putra, A. A. B., Bogoriani, N. W., Diantariani, N. P., Sumadewi, N. L. U. (2014) Ekstraksi zat warna alam dari bonggol tanaman pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan metode maserasi, refluks, dan sokletasi, *Jurnal Kimia*, 8, 113 – 119.
- Ramadhian, M. R., Hasibuan, N. C. (2016) Efektivitas kandungan kalium dan likopen yang terdapat dalam tomat (*Solanum lycopersicum*) terhadap penurunan tekanan darah tinggi, *Majority*, 5.
- Ranveer, R. C., Patil, S. N., Sahoo, A. K. (2013) Effect of different parameters on enzyme-assisted extraction of lycopene from tomato processing waste, *Food and Bioproducts Processing*, 91, 370 – 375.
- Raso-Pueyo, J., Heinz, V. (eds.) (2010) *Pulsed electric fields technology for the food industry: fundamentals and applications*, Springer Science & Business Media, New York.
- Renhoran, M., Noviendri, D., Setyaningsih, I., Uju (2017) Ekstraksi dan purifikasi fukosantin dari *Sargassum sp.* sebagai anti-acne, *JPHPI*, 20, 370 – 379.
- Reyes, F. A., Mendiola, J. A., Ibañez, E., del Valle, J. M. (2014) Astaxanthin extraction from *Haematococcus pluvialis* using CO<sub>2</sub>-expanded ethanol, *The Journal of Supercritical Fluids*, 92, 75 – 83.
- Rocha, G. A., Trindade, C. S. F., Grosso, C. R. F. (2012) Microencapsulation of lycopene by spray drying: Characterization,

- stability, and application of microcapsules, *Food and Bioprocess Technology*, 90, 37 – 42.
- Roohinejad, S., Everett, D. W., Oey, I. (2014) Effect of pulsed electric field processing on carotenoid extractability of carrot purée, *International Journal of Food Science and Technology*, 49, 2120 – 2127.
- Rostagno, M. A., Prado, J. M. (2013) *Natural products extraction: Principles and applications*, RSC Publishing, Cambridge.
- Saravana, P. S., Getachew, A. T., Cho, Y. J., Choi, J. H., Park, Y. B., Woo, H. C., Chun, B. S. (2017) Influence of co-solvents on fucoxanthin and phlorotannin recovery from brown seaweed using supercritical CO<sub>2</sub>, *The Journal of Supercritical Fluids*, 120, 295 – 303.
- Shegokar, R., Mitri, K. (2012) Carotenoid lutein: A promising candidate for pharmaceutical and nutraceutical applications, *Journal of Dietary Supplements*, 9, 183 – 210
- Shi, J., Yi, C., Xue, S.J., Jiang, Y., Ma, Y., Li, D. (2009) Effect of modifiers on the profile of lycopene extracted from tomato skins by supercritical CO<sub>2</sub>, *Journal of Food Engineering*, 93, 431 – 436.
- Sowbhagya, H. B., Sushma, S. B., Rastogi, N. K., Naidu, M. M., (2013) Effect of pretreatment on extraction of pigment from marigold flower, *J Food Sci Technol*, 50, 122 – 128.
- Sugitha, I. M., Harsojuwono, B. A., Yoga, I. W. G. S. (2015) Penentuan formula biskuit labu kuning (*Cucurbita moschata*) sebagai pangan diet penderita diabetes mellitus, *Media Ilmiah Teknologi Pangan*, 2.
- Sun, Y., Liu, D., Chen, J., Ye, X., Yu, D. (2011) Effects of different factors of ultrasound treatment on the extraction yield of the all-*trans*- $\beta$ -carotene from citrus peels, *Ultrasonics Sonochemistry*, 18, 243 – 249.
- Takaichi, A. (2013) Distributions, biosynthesis and functions of carotenoids in algae, *Agro Food Industry Hi Tech.*, 24.
- Tominaga, K., Hongo, N., Kataro, M., Yamashita, E. (2012) Cosmetic benefits of astaxanthin on humans subjects, *Acta Biochimica Polonica*, 59, 43 – 47.
- Wahidah, S. (2012) Wortel sebagai makanan kesehatan dan kecantikan, *Prosiding Makanan Sehat untuk Kecantikan dan Kebugaran dan Festival Makanan Tradisional*, Makassar, 5 Mei.
- Wang, L., Yang, B., Yan., B., Yao, X. (2012) Supercritical fluid extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* and its antioxidant potential in sunflower oil, *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, 120 – 127.
- Wijngaard, H., Hossain, M. B., Rai, D. K., Brunton, N. (2012) Techniques to extract bioactive compounds from food by-products of plant origin, *Food Research International*, 46, 505 – 513.
- Wrolstad, R. E., Culver, C. A. (2012) Alternatives to those artificial FD&C food colorants, *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, 3, 59 – 77.
- Xu, Y., Pan, S. (2013) Effects of various factors of ultrasonic treatment on the extraction yield of all-*trans*-lycopene from red grapefruit (*Citrus paradise macf.*), *Ultrasonics Sonochemistry*, 20, 1026 – 1032.
- Yen, H. W., Chiang, W. C., Sun, C. H. (2012) Supercritical fluid extraction of lutein from *Scenedesmus* cultured in an autotrophical photobioreactor, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43, 53 – 57.
- Zhao, W., Yu, Z., Liu, J., Yu, Y., Yin, Y., Lin, S., Chen, F. (2011) Optimized extraction of polysaccharides from corn silk by pulsed electric field and response surface quadratic design, *J Sci Food Agric*, 91, 2201 – 2209.
- Zou, T. B., Jia, Q., Li, H. W., Wang, C. X., Wu, H. F. (2013) Response surface methodology for ultrasound-assisted extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*, *Mar. Drugs*, 11, 1644 – 1655.