

## Pertumbuhan, Kadar Pigmen dan Aktivitas Antioksidan *Spirulina platensis* pada Kultur dengan Perbedaan Warna Pencahayaan Leds

Budi Aryono<sup>1</sup>, Muhammad Zainuddin<sup>1\*</sup>, Risha Fillah Fithria<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Budidaya Perairan, Fakultas Sain dan Teknologi, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara  
Jl. Taman Siswa, Tahunan, Jepara, Jawa Tengah 59451 Indonesia

<sup>2</sup>Program Studi Profesi Apoteker, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim  
Jl. Menoreh Tengah X/22 Sampangan Semarang Jawa Tengah Indonesia

\*Corresponding author e-mail: zainudin@unisnu.ac.id

**ABSTRAK:** Antioksidan diperlukan tubuh untuk melindungi kesehatan kulit kita. Salah satu sumber antioksidan adalah mikroalga *Spirulina* sp. Permasalahan pemanfaatan spirulina adalah diperlukan teknologi kultur yang tepat untuk menghasilkan aktivitas antioksidan tinggi. Tujuan penelitian adalah melakukan optimasi pencahayaan (warna cahaya) dalam kultur spirulina untuk mendapatkan pertumbuhan terbaik, kadar pigmen dan aktivitas antioksidan tertinggi. Penelitian menggunakan metode eksperimen laboratoris dengan 5 perlakuan yaitu pemberian pencahayaan dengan LED warna biru, hijau, merah, putih dan lampu TL (fluoresens). Perlakuan perbedaan warna pencahayaan dalam kultur berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan, kadar pigmen dan aktivitas antioksidan. Perlakuan terbaik adalah pemberian pencahayaan LED merah yaitu *Spirulina platensis* memiliki pertumbuhan mutlak sebesar  $1,602 \text{ d} \times 10^4 \text{ sel/ml}$ , laju pertumbuhan 0,108/hari, jumlah generasi 2,028, waktu generasi 6,416 hari, yield 9,649 gr/gr, dan produktifitas 24,740 gr/L.hari. Ekstrak spirulina mengandung klorofil a sebesar 10,153 mg/L, klorofil b sebesar 4,744 mg/L, total klorofil 16,053 mg/L, karotenoid 5,893 mg/L. selain itu juga memiliki kandungan pigmen fikobiliprotein yaitu fikosianin 0,055 mg/L, alofikosianin 0,037 mg/L dan fikoeritrin 0,218 mg/L. ekstrak spirulina dari hasil kultur dengan pencahayaan LED merah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 105,4 ppm. Aktivitas antioksidan dari ekstrak *Spirulina* sp. karena adanya kandungan senyawa fitokimia dan pigmen.

**Kata kunci :** kultur; spirulina; pertumbuhan; pigmen; antioksidan

## Growth, Pigment and Antioxidant Activity of *Spirulina platensis* in Culture with Different Color Lighting Leds

**ABSTRACT :** Antioxidants are needed by the body to protect the health of our skin. One source of antioxidants is the microalgae *Spirulina* sp. The problem of using spirulina is that appropriate culture technology is needed to produce high antioxidant activity. The aim of the research was to optimize lighting (light color) in spirulina culture to get the best growth, highest pigment content and antioxidant activity. The study used a laboratory experimental method with 5 treatments, lighting with blue, green, red, white LEDs and fluorescent lights. The treatment of different lighting colors in culture had a significant effect on growth, pigment levels and antioxidant activity. The best treatment was the provision of red LED lighting, *Spirulina platensis* which had absolute growth of  $1.602 \text{ d} \times 10^4$  cells/ml, growth rate of 0.108/day , number of generations 2,028, generation time of 6.416 days, yield of 9.649 gr/gr, and productivity of 24.740 gr/L/day. Spirulina extract contains chlorophyll a of 10,153 mg/L, chlorophyll b of 4,744 mg/L, total chlorophyll 16,053 mg/L, carotenoids 5,893 mg/L. In addition, it also contains phycobiliprotein pigments, phycocyanin 0.055 mg/L, allophycocyanin 0.037 mg/L and phycoerythrin 0.218 mg/L. Spirulina extract from culture results with red LED lighting has antioxidant activity with an IC<sub>50</sub> value of 105.4 ppm. The antioxidant activity of the spirulina extract is due to the presence of phytochemical compounds and pigments.

**Keywords :** culture; spirulina; growth; pigment; antioxidant

## PENDAHULUAN

Bagian terluar dari tubuh manusia adalah kulit. Kulit berfungsi melapisi dan melindungi tubuh dari pengaruh lingkungan (Jia *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2019). Pengaruh lingkungan seperti asap rokok, polusi udara dan radiasi sinar ultraviolet dapat memicu terbentuknya radikal bebas (Pan *et al.*, 2019; Chaikul *et al.*, 2020). Paparan radikal bebas ini mengakibatkan kerusakan kulit. sebagai contohnya radiasi ultraviolet mengakibatkan kerusakan kulit menjadi penggelapan, tekanan imuitas dan mempercepat penuaan kulit (Rodríguez, 2014; Albrecht *et al.*, 2019; Chaikul *et al.*, 2020). Oleh karena itu, tubuh memerlukan sediaan kosmetik yang mengandung antioksidan alami. kosmetik ini dapat memberi perlindungan dari paparan radikal bebas (Arsenie *et al.*, 2020; Haddada *et al.*, 2020; Othman *et al.*, 2020).

Senyawa yang bersifat antioksidan dapat diperoleh dengan melakukan ekstraksi dari bahan alam. Sumber senyawa antioksidan yang bersifat alami dapat berasal dari mikroalga. penelitian ini menggunakan mikroalga *Spirulina platensis* sebagai sumber antioksidan (Junique *et al.*, 2021). *Spirulina platensis* merupakan mikroalga yang bersifat autotrof dan memiliki warna hijau kebiruan. sel spirulina berkoloni membentuk filamen spiral (Chia *et al.*, 2020; Shanthi *et al.*, 2021). Senyawa antioksidan pada mikroalga adalah dari golongan pigmen diantaranya klorofil, karotenoid, dan fikobiliprotein (Chia *et al.*, 2020; Ren *et al.*, 2021).

Antioksidan alami dari Biopigmen *Spirulina platensis* telah digunakan dalam bidang makanan, suplemen dan kosmetik (Lafarga *et al.*, 2020; Alagawany *et al.*, 2021; Lim *et al.*, 2021). Dalam usaha mencukupi kebutuhan biopigmen maka dilakukan kultur *Spirulina platensis*. Secara umum dalam produksi mikroalga skala masal menggunakan cahaya matahari sebagai sumber pencahayaan. Kelebihan cahaya matahari adalah jumlah dan keberadaannya yang dapat menekan biaya produksi. Sedangkan kekurangannya adalah terbatas dengan keberadaan siklus siang dan malam, perubahan cuaca dan musim. Sehingga kelemahan tersebut dapat berpengaruh terhadap produktivitas dan kualitas produk yang dihasilkan. Salah satu cara untuk mengatasi permasalahan ini adalah dengan menggunakan pencahayaan dari sumber cahaya artifisial.

Penggunaan sumber cahaya artifisial memiliki kelebihan yaitu pencahayaan dapat disesuaikan dengan kebutuhan dalam proses kultur. Selain itu juga kualitas pencahayaan yang optimal dapat meningkatkan produksi dan kualitas produk. Sedangkan kelemahan dalam penggunaan pencahayaan artifisial adalah biaya produksi yang tinggi dari pada pencahayaan dengan cahaya matahari. Meskipun demikian, penggunaan cahaya artifisial dapat bernilai ekonomis jika biomassa yang dihasilkan memiliki jumlah yang besar dan digunakan sebagai bahan baku untuk memproduksi produk bernilai tinggi seperti kosmetik dan suplemen.

Saat ini pencahayaan artifisial yang secara umum sudah digunakan dalam kultur mikroalga adalah cahaya artifisial dari lampu fluoresens (lampu neon) (Zielinska *et al.*, 2017; Leopoldino *et al.*, 2019). Lampu neon fluoresens menghasilkan cahaya polikromatis yang terdiri atas beberapa panjang gelombang. Pencahayaan warna putih dari lampu neon fluoresens memiliki kekurangan yaitu tingkat efisiensi yang kurang karena keberadaan panjang gelombang lain yang mempengaruhi fotosintesis dan memiliki aktivitas fotosintetik yang rendah (Kadam *et al.*, 2019). Oleh karena itu, diperlukan alternatif sumber pencahayaan lain yang bisa meningkatkan produksi. kandidat sumber cahaya artifisial yang ideal adalah Light emitting diodes (LEDs).

Lampu LEDs memiliki keunggulan diantaranya hemat energi, memiliki masa penggunaan yang lama, dapat menghasilkan cahaya monokromatik (Cao *et al.*, 2020; Booysen *et al.*, 2021; Yap *et al.*, 2021). Sehingga dengan menggunakan pencahayaan pada panjang gelombang tertentu ataupun kombinasinya diduga dapat meningkatkan produksi biomassa maupun meningkatkan komponen kimia mikroalga seperti senyawa bioaktif dan biopigmen. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pencahayaan monokromatis LEDs (biru, hijau dan merah), lampu LEDs putih dan lampu TL fluoresens (kontrol) terhadap pertumbuhan, kadar pigmen dan aktivitas antioksidan *Spirulina platensis*.

## MATERI DAN METODE

Materi dalam penelitian ini adalah *Spirulina platensis* yang didapatkan dari koleksi Laboratorium Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Peraian, Fakultas Sain dan Teknologi, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara dan selanjutnya dilakukan *scale up* dengan menggunakan pupuk walne yang didapatkan dari Laboratorium Pakan Hidup, BBPBAP – Jepara.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni 2022. Kultur dan Uji pertumbuhan *Spirulina platensis* bertempat di Laboratorium Budidaya Perairan, Program Studi Budidaya Peraian, Fakultas Sain dan Teknologi, Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara. Pengukuran kadar pigmen dan aktivitas antioksidan bertempat di Laboratorium Marine Science Techno Park (MSTP), Universitas Diponegoro, Jepara.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi gelas ukur, erlenmeyer, pipet tetes, pipet volume, instalasi aerasi, termometer, luxmeter, pH meter, refraktometer, spektrofotometer UV Vis, lampu LED biru ( $\lambda = 455,7$  nm), hijau ( $\lambda = 515,8$  nm), merah ( $\lambda = 633,8$  nm), putih ( $\lambda = 456,6$  nm, 515,8 nm, 632,9 nm) dan lampu TL fluoresens ( $\lambda = 407$  nm, 443 nm, 537 nm, 592 nm). Mikroskop, Sedgwick-rafter, Handcounter. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kapas, alkohol 70 %, aluminium foil, plastik wreb, aquades.

Penelitian menggunakan metode eksperimen laboratoris dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan (terdapat 15 unit eksperimen). Media kultur yang digunakan adalah air laut hasil filtrasi dengan salinitas 30 ppt. Sebanyak 15 erlenmeyer ukuran 2 liter masing - masing diisi dengan air laut 30 ppt sebanyak 1,5 L, media walne sebanyak 1% dengan kepadatan awal  $0,5 \times 10^4$  sel/ml dan diberi aerasi (Yuan *et al.*, 2019). Perlakuan yang didiberikan adalah perbedaan warna pencahayaan dalam kultur *Spirulina platensis* yaitu dengan pencahayaan lampu LED biru ( $\lambda = 455,7$  nm), hijau ( $\lambda = 515,8$  nm), merah ( $\lambda = 633,8$  nm), putih ( $\lambda = 456,6$  nm, 515,8 nm, 632,9 nm) dan lampu fluoresens Philips TL-D 36W/865 1SL, 80 Ra8, Cool Daylight ( $\lambda = 407$  nm, 443 nm, 537 nm, 592 nm). Fotoperiot pencahayaan 24 jam terang dengan intensitas cahaya 2000 lux. Dilakukan pengukuran parameter kualitas media setiap hari sekali, yaitu pH, DO, salinitas serta memastikan tidak terjadi kontaminasi terhadap mikroalga *Spirulina platensis* yang telah dikultivasi (da Fontoura Prates *et al.*, 2020; Han *et al.*, 2021).

Perhitungan kepadatan sel *Spirulina platensis* diamati setiap hari selama kultur berlangsung. Dilakukan pengambilan sampel kultur secara aseptis dan kemudian dilakukan penetesan ke alat hemositometer. Sel yang ada di hemositometer dilakukan penghitungan dengan menggunakan mikroskop Olympus BH-2 (Olympus, Japan) pada perbesaran total 100 kali (Soni *et al.*, 2019; Hadiyanto *et al.*, 2021). Teknik pengenceran dilakukan saat kepadatan *Spirulina platensis* sudah tinggi, rumus perhitungannya kepadatan sel sebagai berikut :

$$N = (C \times 10^4) / (A \times D)$$

Keterangan: N = Kepadatan sel spirulina (sel/mL); C = Jumlah sel yang dihitung; A = Luas lapang pandang ( $\text{mm}^2$ ); D = Kedalaman lapang pandang (mm)

Berdasarkan data kepadatan sel, selanjutnya dilakukan penghitungan pertumbuhan sel yang meliputi pertumbuhan mutlak, jumlah generasi, waktu generasi dan laju pertumbuhan spesifik dengan persamaan :

$$M = N_t - N_0, \quad g = (\log N_t - \log N_0) / 0,301, \quad T_g = t / g, \quad \mu = (\ln N_t - \ln N_0) / t$$

Keterangan: Nt = Kepadatan sel spirulina saat waktu t (sel/mL); N0 = Kepadatan sel spirulina saat waktu awal kultur (sel.mL); g = Jumlah generasi; Tg = Waktu generasi (hari); t = Waktu pengamatan (hari); μ = Laju pertumbuhan spesifik (hari)

## Pemanenan Dan Perhitungan Produksi Biomassa

Hasil kultur dilakukan pemanenan menggunakan *filter pump* dengan kertas saring (Whatman GF/C 0,45 µm). hasil filtrasi dikeringkan selama dua jam pada suhu 105°C dan selanjutnya ditimbang sebagai bobot akhir (Almomani *et al.*, 2019; de Jesus *et al.*, 2019; Lim *et al.*, 2021). Perhitungan nilai yield dan produktivitas dengan persamaan berikut (Vonshak, 1997).

$$\text{Yield} = \frac{W_t}{W_0}, \quad P_m = \frac{(W_t - W_0)}{(V^*t)}$$

Keterangan:  $W_t$  = Berat kering biomassa pada waktu t (gram);  $W_0$  = Berat kering biomassa pada awal penelitian (gram);  $P_m$  = Produktivitas biomassa (gr/L.hari);  $V$  = Volume kultur (Liter);  $t$  = Waktu pengamatan (hari)

## Pengukuran Kadar Klorofil Dan Karotenoid

Sebanyak 5 mg sampel dihaluskan dengan mortar, kemudian ditambahkan 5 ml aseton 80%. Hasil pelarutan dimasukkan kedalam botol sampel ukuran 10 mL. Agar sampel tidak terkena paparan cahaya maka dibungkus menggunakan alumunium foil. Sampel dilakukan inkubasi semalam di dalam refrigerator. Selanjutnya sampel di inkubasi suhu ruang. Dilakukan disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm dan dipisahkan antara endapan dengan supernatannya (Ranjitha *et al.*, 2020). Supernatan dilakukan pengukuran OD dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 450 nm, 663 nm, dan 645 nm (Rizzi *et al.*, 2021). Kandungan klorofil a, b, total dan karotenoid dihitung menggunakan persamaan:

$$\text{Klorofil a (mg/L)} = 12,25 (\text{A663}) - 2,55$$

$$\text{Klorofil b (mg/L)} = 20,31 (\text{A645}) - 4,91$$

$$\text{Total klorofil (mg/L)} = 17,76 (\text{A645}) + 7,34 (663)$$

$$\text{Karotenoid (mg/L)} = (1000 * \text{A450}) - (3,27 * \text{Klorofil a}) - [(104 * \text{klorofil b}) / 227]$$

## Pengukuran Pigmen Fikobiliprotein

Sebanyak 5 mg sampel dihaluskan dengan mortar, kemudian ditambahkan 5 ml aquades. Hasil pelarutan dimasukkan kedalam botol sampel ukuran 10 mL. Agar sampel tidak terkena paparan cahaya maka dibungkus menggunakan alumunium foil. Sampel dilakukan inkubasi selama 14-16 jam di dalam refrigerator. selanjutnya sampel di inkubasi suhu ruang. Dilakukan disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm dan dipisahkan antara endapan dengan supernatannya (Rathnasamy *et al.*, 2019; Rodrigues *et al.*, 2019). Supernatan dilakukan pengukuran OD dengan spektrofotometri pada panjang gelombang 562 nm, 615 nm, dan 652 nm (Pagels *et al.*, 2019; Purvis *et al.*, 2019). Penghitungan Fikosianin, Allofikosianin dan Fikoeritrin menggunakan persamaan :

$$\text{Fikosianin (mg/L)} = [\text{A620} - (0,7 * \text{A650})] / 7,38$$

$$\text{Allofikosianin (mg/L)} = [\text{A650} - (0,19 * \text{A620})] / 5,65$$

$$\text{Fikoeritrin (mg/L)} = [\text{A565} - (2,8 * \text{Fikosianin}) - (1,34 * \text{Allofikosianin})] / 12,7$$

## Uji Aktivitas Antioksidan DPPH

Satu ml larutan sampel konsentrasi 25, 50, 75, 100, 125 dan 150 ppm. Selanjutnya masing-masing dimasukkan ke dalam vial dan ditambah dengan 3 ml reagen DPPH 0,1 mM. Larutan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Blanko dibuat dari 1 ml pelarut tanpa ekstrak ditambah dengan 3 ml reagen DPPH 0,1 mM (Kandi dan Charles, 2019; Romanet *et al.*, 2021; Yang *et al.*, 2021). Persentase inhibisi dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = [(A_0 - A_1) / A_1] * 100\%$$

Keterangan:  $A_0$  = Absorbansi blangko;  $A_1$  = Absorbansi sampel

## Analisis Data

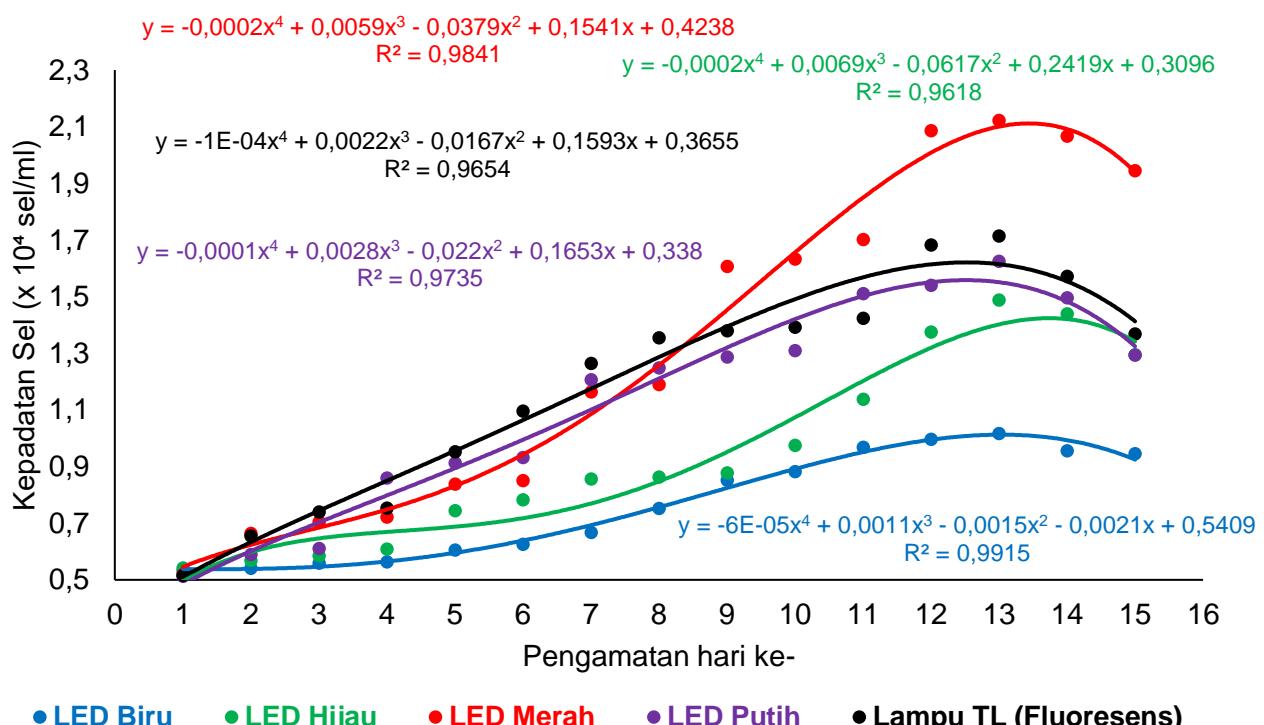
Data kepadatan sel dilakukan analisis polynomial untuk menentukan fase pertumbuhan. Selanjutnya dilakukan analisis regresi linier sederhana untuk mengetahui tren eksponensial. Data pertumbuhan mutlak, jumlah generasi, waktu generasi, laju pertumbuhan, yield, produktifitas, kadar klorofil a, b, total karotenoid, pigmen fikobiliprotein dilakukan uji homogenitas, aditivitas dan normalitas. Selanjutnya jika memenuhi kriteria maka data dilakukan uji one way anova. Jika perlakuan memberikan pengaruh berbeda secara nyata maka dilanjutkan dengan uji Tukey. Data persen inhibisi dilakukan analisis regresi linier sederhana untuk menentukan nilai IC<sub>50</sub>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini melakukan optimasi panjang gelombang pencahayaan dalam kultur *Spirulina platensis*. perlakuan tersebut diantaranya pemberian pencahayaan dengan lampu LED biru ( $\lambda = 455,7$  nm), hijau ( $\lambda = 515,8$  nm), merah ( $\lambda = 633,8$  nm), putih ( $\lambda = 456,6$  nm, 515,8 nm, 632,9 nm) dan lampu TL fluoresens ( $\lambda = 407$  nm, 443 nm, 537 nm, 592 nm). Parameter yang diamati meliputi pertumbuhan, kadar klorofil, kadar pigmen fikobiliprotein dan aktivitas antioksidan.

### Pertumbuhan *Spirulina platensis*

Berdasarkan hasil penelitian Gambar 1 menuntukkan bahwa perbedaan panjang gelombang (warna) pencahayaan dalam kultivasi *Spirulina platensis* berpengaruh terhadap pola pertumbuhan. Perlakuan lampu LED biru menuntukkan respon pertumbuhan pada fase penyesuaian terjadi sangat lama yaitu dari hari pertama hingga hari ke 7. Fase eksplosional pada hari ke 8 hingga hari ke 12. hari ke 12 hingga 13 merupakan fase stasioner dengan puncak pertumbuhan pada hari ke 13. Selanjutnya hari ke 14 dan 15 terjadi fase kematian.



Gambar 1. Pola polynomial pertumbuhan *Spirulina platensis*

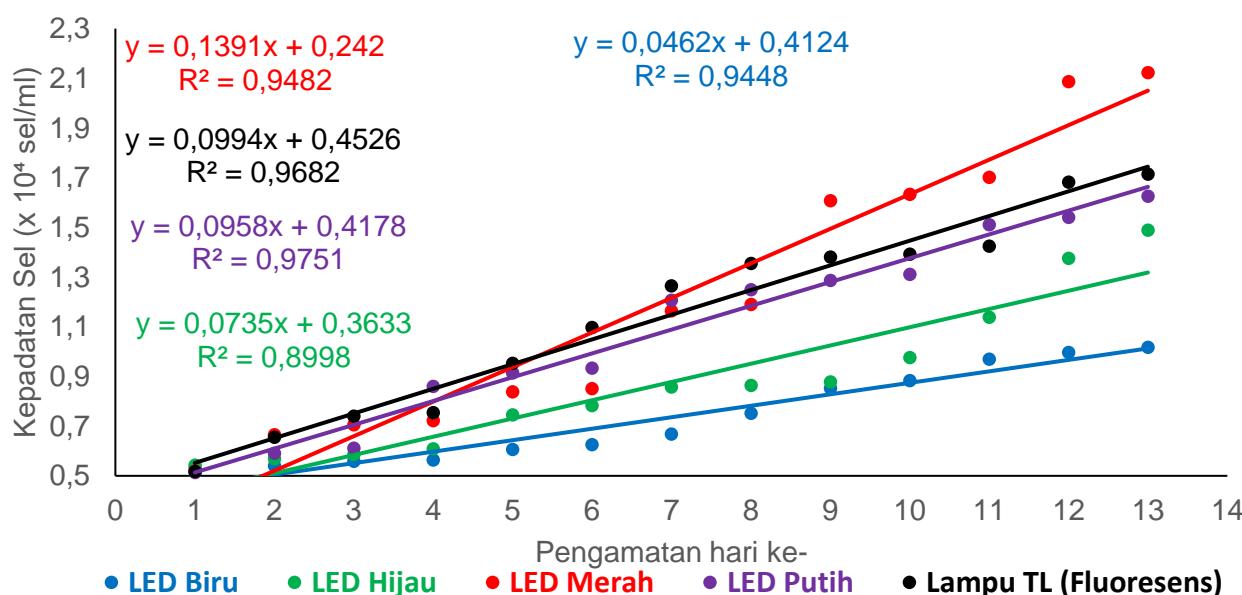
Perlakuan LED hijau memberikan fase penyesuaian hari ke 1 hingga 4, fase eksponensial pada hari ke 5 hingga 12 dan puncak pertumbuhan hari ke 13 selanjutnya fase kematian. Perlakuan LED merah memberikan fase penyesuaian pertumbuhan hari ke 1 dan 2, fase eksponensial pada hari ke 3 hingga 12, fase stasioner pada hari ke 12 hingga 14 dengan puncak pertumbuhan hari ke 13. fase kematian pada hari 14 dan 15.

Perlakuan LED putih memberikan fase penyesuaian yang singkat pada hari pertama, fase eksponensial pada hari ke 2 hingga 11. Fase stasioner pada hari ke 11 hingga 14 dan terjadi puncak pertumbuhan pada hari ke 13. Fase kematian pada hari ke 14 dan 15. Perlakuan lampu TL memiliki respon fase penyesuaian yang singkat pada hari pertama. Fase eksponensial pada hari ke 2 hingga ke 12. Puncak pertumbuhan pada hari ke 13. Fase kematian pada hari ke 14 dan 15.

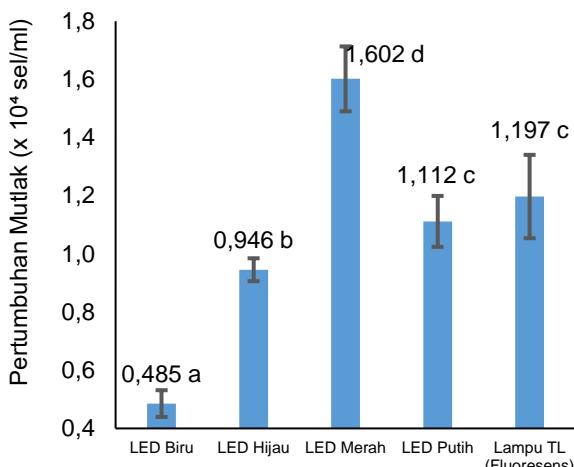
*Spirulina platensis* memiliki fase pertumbuhan yang meliputi fase penyesuaian, eksponensial, stasioner dan kematian. Fase penyesuaian ditandai pada garis polinomial yang stasioner pada awal kultifasi. kondisi jumlah sel adalah di kepadatan stagnan dan tidak mengalami perubahan signifikan. Fase penyesuaian merupakan fase dimana spirulina menyesiaikan diri terhadap media kultur yang baru. fase ini menggunakan energi untuk menjaga kestabilan proses metabolisme, sehingga hanya sebagian kecil energi untuk pertumbuhan (Almomani et al., 2019; de Jesus et al., 2019; Hadiyanto et al., 2021).

Fase eksponensial ditandai pada garis polinomial yang mengalami peningkatan laju pertumbuhan. kondisi jumlah sel mengalami kenaikan pesat dan mengalami perubahan signifikan. Peningkatan laju pertumbuhan terjadi karena sel *Spirulina platensis* melakukan pembelahan sel secara aktif. Peningkatan pembentukan protein dan komponen-komponen penyusun plasma sel yang dibutuhkan dalam pertumbuhan (Soni et al., 2019; da Fontoura Prates et al., 2020; Han et al., 2021). Perlakuan dengan pencahayaan LED merah memiliki nilai kepadatan sel tertinggi hal ini diduga bahwa perlakuan dapat memacu pembelahan sel dan meningkatkan laju pertumbuhan.

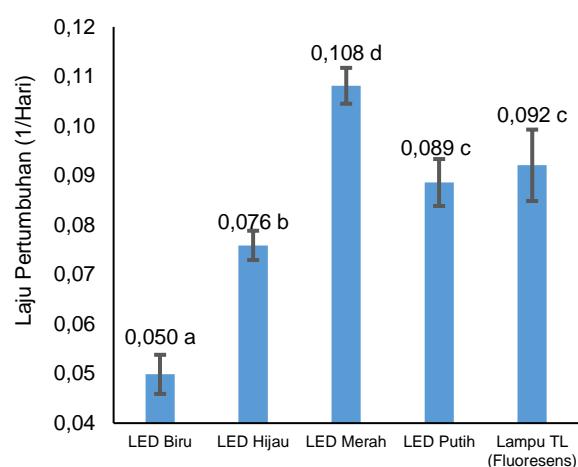
Perlakuan perbedaan warna pencahayaan berpengaruh terhadap pola pertumbuhan *Spirulina platensis*. Hasil penelitian gambar 2 menunjukkan bahwa regresi fase eksponensial pertumbuhan *Spirulina platensis* berbeda karena pengaruh warna pencahayaan. perlakuan LED merah memiliki fase eksponensial pertumbuhan tertinggi dengan persamaan linier  $y = 0,1391x + 0,242$  dengan  $R^2$  sebesar 0,9482. Sedangkan perlakuan LED biru memiliki fase eksponensial pertumbuhan terendah yaitu dengan persamaan linier  $y = 0,0462x + 0,4124$  dengan  $R^2$  sebesar 0,9448. Kepadatan sel pada fase eksponensial ini selanjutnya digunakan untuk menghitung nilai pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan, jumlah dan waktu generasi sel.



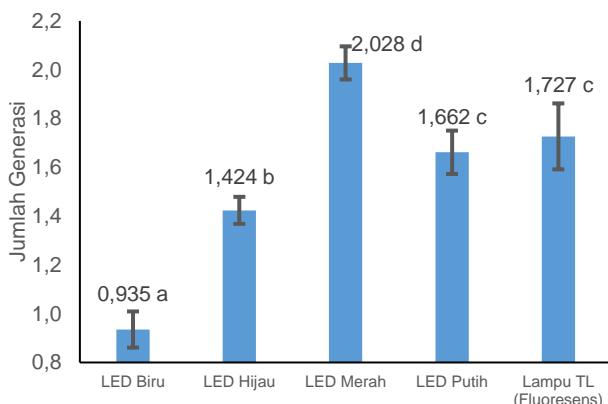
Gambar 2. Regresi linier pertumbuhan *Spirulina platensis* pada fase eksponensial



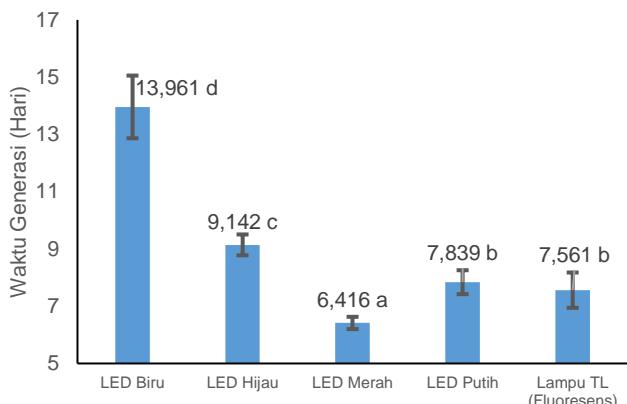
(a)



(b)



(c)



(d)

**Gambar 3.** Respon pertumbuhan *Spirulina platensis* : (a) Pertumbuhan mutlak, (b) Laju pertumbuhan, (c) Jumlah generasi sel, (d) Waktu generasi sel.

Berdasarkan hasil penelitian gambar 3 menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan warna pencahayaan berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan mutlak, laju pertumbuhan, jumlah dan waktu generasi. Nilai respon pertumbuhan mutlak dari tertinggi hingga terendah adalah perlakuan LED merah, lampu TL, LED putih, hijau dan biru. Nilai pertumbuhan mutlak secara berurutan sebesar 1,602 d, 1,197 c, 1,112 c, 0,946 b dan 0,485 a  $\times 10^4$  sel/ml. perlakuan LED putih dan lampu TL memiliki nilai pertumbuhan mutlak yang tidak berbeda secara signifikan tetapi keduanya berbeda terhadap perlakuan lainnya. Dua perlakuan dengan laju pertumbuhan terendah adalah perlakuan LED biru dan hijau yaitu dengan nilai 0,05 a dan 0,076 b hari<sup>-1</sup>. Sedangkan perlakuan LED merah memiliki respon laju pertumbuhan tertinggi yaitu sebesar 0,108 d hari<sup>-1</sup>. Nilai jumlah generasi dan waktu generasi memiliki hubungan korelasi negatif. perlakuan LED biru memiliki nilai jumlah generasi terendah dan waktu generasi tertinggi yaitu sebesar 0,935 a dan 13,961 d hari. Perlakuan LED merah memiliki nilai jumlah generasi tertinggi dan waktu generasi terendah yaitu sebesar 2,028 d dan 6,416 a hari.

Hasil penelitian Gambar 4 menunjukkan bahwa perlakuan warna pencahayaan berpengaruh terhadap nilai yield dan produktifitas. Perlakuan LED biru memiliki nilai yield dan produktifitas terendah dari perlakuan yang lain yaitu sebesar 1,163 a gr/gr dan 2,983 a gr/L.Hari. Sedangkan perlakuan dengan nilai yield dan produktifitas tertinggi adalah perlakuan LED merah yaitu sebesar

9,649 e gr/gr dan 24,740 e gr/L.Hari. Terdapat perbedaan nilai biomassa hasil panen antar perlakuan. Perbedaan nilai yield dan produktifitas dikarenakan pengaruh kualitas cahaya yaitu panjang gelombang yang berasal dari LED sebagai sumber pencahayaan monokromatik. Panjang gelombang dan intensitas pencahayaan merupakan faktor utama yang memengaruhi proses fotosintesis. *Spirulina platensis* merupakan organisme fotoautotrof yang melakukan proses fotosintesis untuk memperoleh energi yang diperlukan dalam metabolisme dan pertumbuhan. Fotosintesis dipengaruhi oleh berbagai variabel internal maupun eksternal yang selanjutnya akan berdampak terhadap produksi biomassa Spirulina (Yuan *et al.*, 2019; Lim *et al.*, 2021).

### Kadar Klorofil *Spirulina platensis*

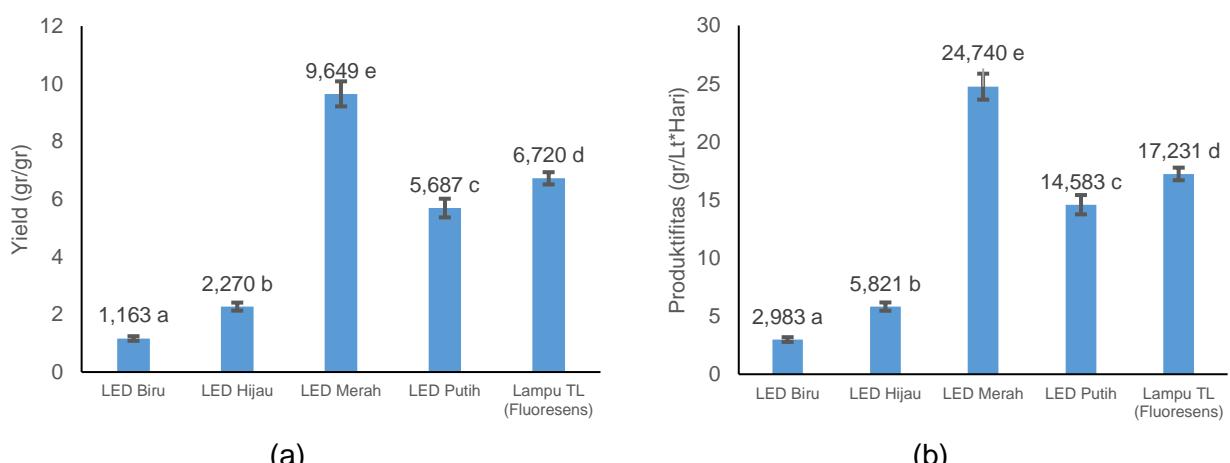
Hasil penelitian Gambar 5.a menunjukkan bahwa perlakuan warna pencahayaan berpengaruh terhadap nilai klorofil a, klorofil b, total klorofil dan karotenoid. Perlakuan LED biru memiliki nilai klorofil a, klorofil b, total klorofil dan karotenoid terendah dari perlakuan yang lain.

Perlakuan LED biru memiliki nilai klorofil a dan total klorofil sebesar 5,087 a mg/L dan 10,692 a mg/L. perlakuan LED biru dan hijau memiliki nilai klorofil b yang rendah dan saling tidak berbeda nyata yaitu sebesar 2,084 a dan 2,193 a mg/L. Selain itu juga memiliki nilai karotenoid yang tidak berbeda nyata yaitu sebesar 2,908 a dan 3,101 a mg/L. Perlakuan LED merah memiliki nilai klorofil a, klorofil b, dan total klorofil tertinggi, secara berurutan yaitu sebesar 10,153 d, 4,744 c, 16,053 d mg/L.

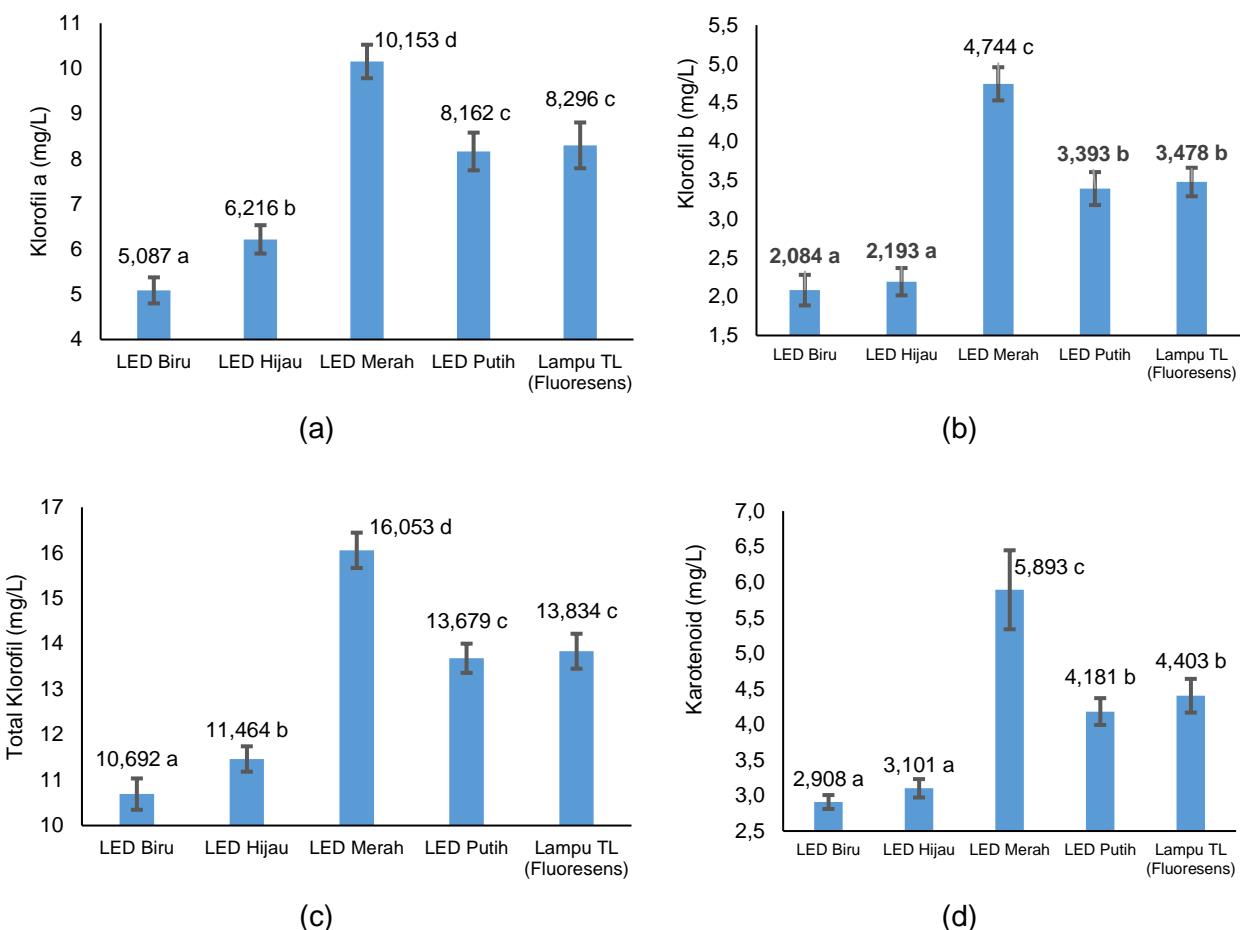
Peningkatan kadar klorofil mikroalga dipengaruhi oleh intensitas, panjang gelombang pencahayaan dan foto periode penyinaran dalam proses kultur. Panjang gelombang yang tepat dan optimal, akan meningkatkan proses metabolisme sel dan pembentukan klorofisi. Semakin tingginya kadar klorofil akan menyebabkan proses fotosintesis berjalan dengan maksimal sehingga laju pertumbuhan sel spirulina meningkat eksponensial (Rizzi *et al.*, 2021). Terdapat korelasi linier positif antara kepadatan sel mikroalga terhadap kadar klorofil yaitu semakin tinggi kepadatan sel atau biomassa maka kadar klorofil semakin tinggi. Proses fotosintesis dipengaruhi oleh kuantitas dan kualitas pencahayaan. Dalam proses fotosintesis melibatkan klorofil dalam metabolisme pembentukan energi dan oksigen. Reaksi fotosintesis dengan menggunakan pencahayaan merupakan reaksi fotosintesis dalam reaksi terang (Ranjitha *et al.*, 2020).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan LED merah memiliki nilai karotenoid tertinggi yaitu sebesar 5,893 c mg/L. Terdapat korelasi positif antara laju peningkatan fotosintesis dengan peningkatan kadar karotenoid, yaitu semakin tinggi reaksi fotosintesis maka kadar pigmen karotenoid semakin meningkat. Selain itu juga dengan terjadinya peningkatan reaksi fotosintesis maka pertumbuhan sel dan produksi biomassa sel spirulina platensis mengalami peningkatan (Rodrigues *et al.*, 2020).

Selain pigmen klorofil dan karotenoid, dalam penelitian ini juga dilakukan analisis terhadap kadar pigmen fikobiliprotein. Berdasarkan hasil penelitian Gambar 6 menunjukkan bahwa perlakuan perbedaan warna pencahayaan berpengaruh terhadap kadar pigmen fikobiliprotein.



Gambar 4. Pertumbuhan biomassa sel *Spirulina platensis* : (a). yield dan (b). Produktifitas



**Gambar 5.** Respon kadar pigmen klorofil dan karotenoid *Spirulina platensis* : (a). Kadar klorofil a, (b). Kadar klorofil b, (c). Kadar total klorofil, (d). Kadar karotenoid.

Perlakuan lampu TL (fluoresens) memiliki nilai fikosianin dan fikoeritrin tertinggi yaitu sebesar 0,107 d dan 0,335 e mg/L. Sedangkan terhadap nilai alofikosianin perlakuan lampu TL memiliki nilai terendah yaitu sebesar 0,022 a mg/L. Perlakuan LED biru memiliki nilai fikosianin dan fikoeritrin terendah yaitu sebesar 0,029 dan 0,120 mg/L. Sedangkan pada alofikosianin perlakuan LED biru memiliki nilai tertinggi yaitu sebesar 0,046 c mg/L.

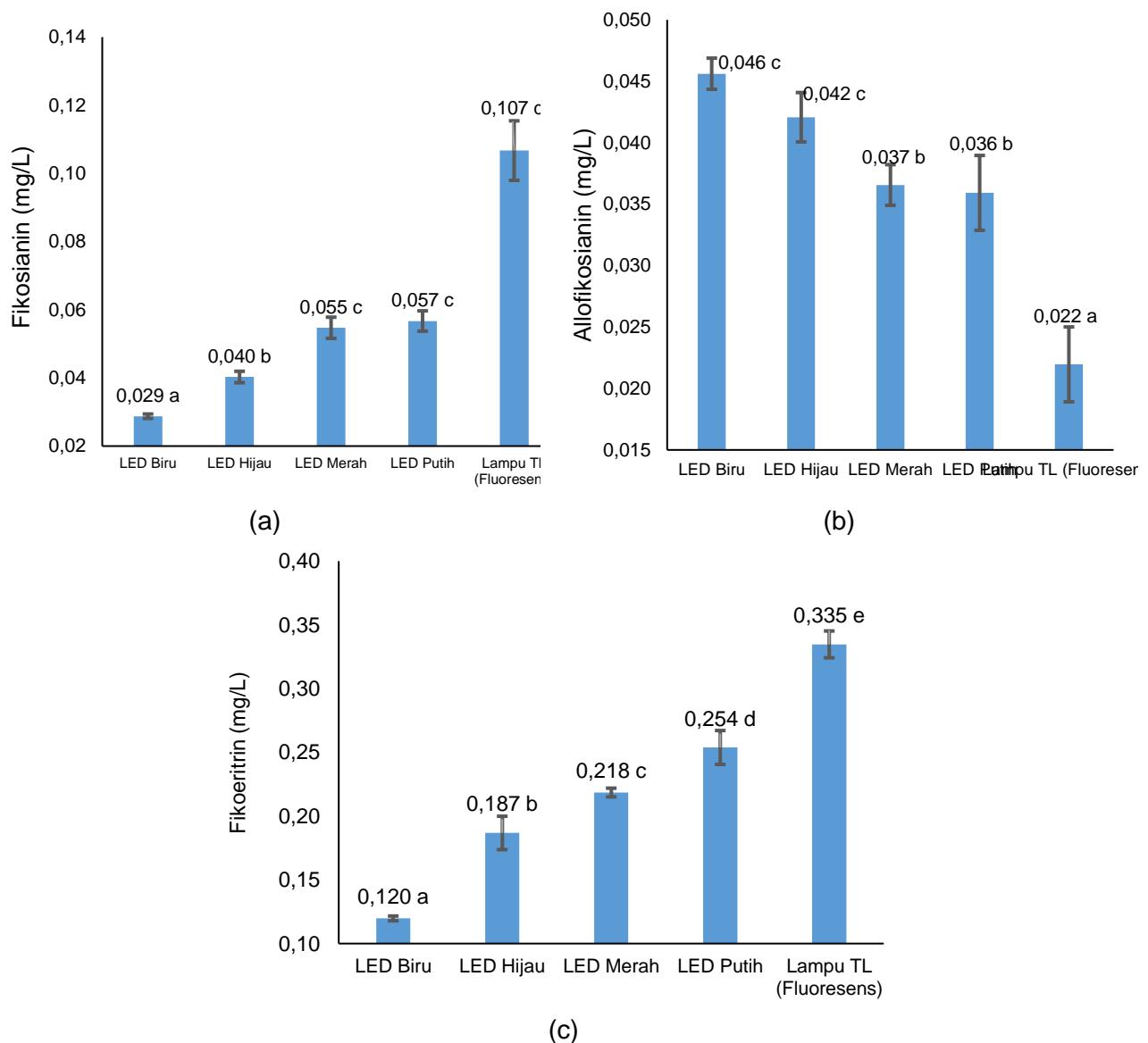
Mikroalga *Spirulina platensis* memiliki pigmen protein kompleks fikobilisom sebagai penangkap sinar matahari. Fikosianin merupakan salah satu jenis pigmen fikobiliprotein yang memberikan warna biru. Pigmen fikosianin merupakan hasil dari proses metabolisme sekunder yang penting bagi proses pertumbuhan (Purvis et al., 2019; Faieta et al., 2021). Proses metabolisme sekunder terjadi tidak sepanjang pertumbuhan tetapi terjadi pada fase tertentu dengan kondisi yang sesuai dan dibutuhkan. Pada siklus pertumbuhan *Spirulina platensis*, fikosianin di produksi pada fase eksponensial akhir dan kondisi maksimum saat menuju ke fase stasioner. Hal itu dikenakan metabolit sekunder terjadi disaat sel dalam tahap diferensiasi menjadi sel yang lebih terspesialisasi (Pagels et al., 2019; Purvis et al., 2019). Senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk pertahanan diri suatu organisme. mekanisme pertahanan tersebut adalah fikosianin bekerja sebagai pigmen pelengkap untuk membantu klorofil dalam menyerap cahaya pada proses fotosintesis (Rathnasamy et al., 2019; Rodrigues et al., 2019).

### Aktivitas Antioksidan

Ekstrak spirulina hasil kultur dengan kondisi perlakuan perbedaan panjang gelombang pencahayaan selanjutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan dengan metode radikal DPPH. Ekstrak

dilakukan pereaksian dengan larutan DPPH berbeda konsentrasi. Hasil pereaksian dilakukan inkubasi dan spektrofotometri. Data yang didapatkan dari spektrofotometri dilakukan perhitungan persen inhibisi dengan menggunakan persamaan standart DPPH. Data persen inhibisi pada hasil penelitian Gambar 7 menunjukkan bahwa semua ekstrak dari perbedaan perlakuan pencahayaan menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka nilai persen inhibisi semakin tinggi. semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka aktivitas antioksidan semakin kuat.

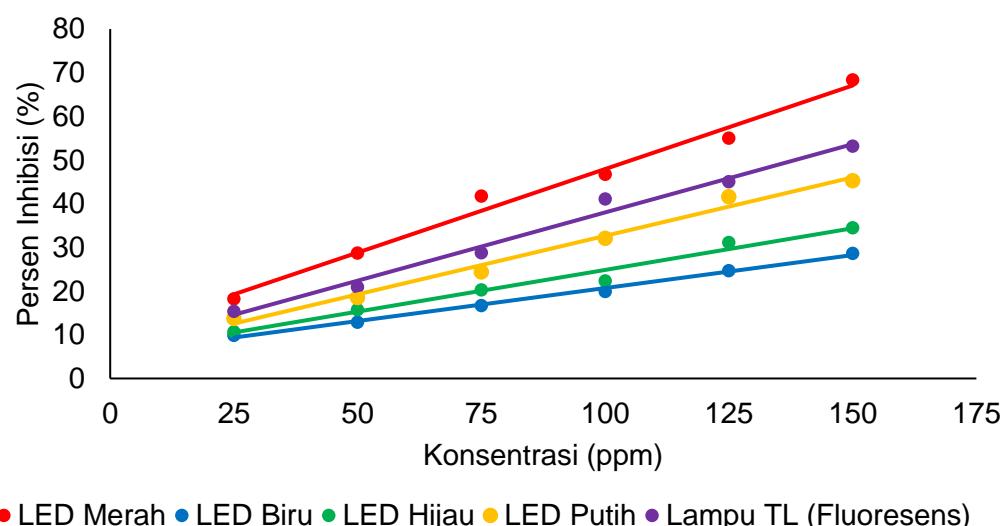
Perlakuan LED biru dan hijau memiliki nilai persen inhibisi 50 % pada konsentrasi diatas 200 ppm. perlakuan LED biru memiliki persamaan regresi  $y = 0,1511x + 5,5893$  dengan koefisien korelasi sebesar 0,998 dan nilai IC<sub>50</sub> tertinggi yaitu sebesar 293,9 ppm. perlakuan LED hijau memiliki persamaan regresi  $y = 0,1909x + 5,7631$  dengan koefisien korelasi sebesar 0,989 dan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 231,7 ppm. Perlakuan dengan aktivitas antioksidan tertinggi adalah LED merah dengan persamaan regresi  $y = 0,3824x + 9,7036$  dengan koefisien korelasi sebesar 0,993 dan nilai IC<sub>50</sub> terendah yaitu sebesar 105,4 ppm.



**Gambar 6.** Respon kadar pigmen fikobiliprotein *Spirulina platensis* : (a). Kadar fikosianin, (b). Kadar allofikosianin, (c). Kadar fikoeritrin.

**Tabel 1.** Pengaruh panjang gelombang pencahayaan dalam kultur terhadap aktivitas antioksidan ekstrak *Spirulina platensis*

Perlakuan	Persamaan	R <sup>2</sup>	R	IC <sub>50</sub> (ppm)
LED Biru	y = 0,1511x + 5,5893	0,995	0,998	293,9
LED Hijau	y = 0,1909x + 5,7631	0,978	0,989	231,7
LED Merah	y = 0,3824x + 9,7036	0,987	0,993	105,4
LED Putih	y = 0,2678x + 5,8660	0,987	0,993	164,8
Lampu TL (Fluoresens)	y = 0,3125x + 6,7699	0,986	0,993	138,3

**Gambar 7.** Bentuk hubungan konsentrasi ekstrak *Spirulina platensis* terhadap persen inhibisi

Senyawa antioksidan alami merupakan senyawa yang didapatkan dari bahan alam dan senyawa tersebut mampu mendonorkan atom hidrogennya pada radikal bebas DPPH. Reaksi peredaman radikal DPPH ditandai dengan terjadinya perubahan warna DPPH dari warna ungu menjadi memudar (Romanet *et al.*, 2021). Aktivitas radikal DPPH dapat diukur dalam bentuk teroksidasi dengan metode spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm (Kandi dan Charles, 2019). *Spirulina platensis* memiliki kandungan senyawa fitokimia dan biopigmen yang diduga dapat berfungsi sebagai antioksidan. Kandungan tersebut berupa senyawa fenol dan alkaloid. sedangkan biopigmen berupa klorofil,karotenoid dan pigmen fikobiliprotein (Vigliante *et al.*, 2019; de Moraes Nogueira *et al.*, 2021).

## KESIMPULAN

Perlakuan perbedaan panjang gelombang pencahayaan dalam kultur *Spirulina platensis* memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan, kadar pigmen dan aktivitas antioksidan. Perlakuan terbaik adalah dengan pemberian pencahayaan LED merah yaitu *Spirulina platensis* memiliki puncak pertumbuhan hari ke 13 dengan kepadatan sel  $2,122 \times 10^4$  sel/ml, pertumbuhan mutlak sebesar  $1,602 \text{ d} \times 10^4$  sel/ml, laju pertumbuhan  $0,108 \text{ hari}^{-1}$ , jumlah generasi 2,028, waktu generasi 6,416 hari, yield 9,649 gr/gr, dan produktifitas 24,740 gr/L.hari. Ekstrak spirulina hasil kultur dengan LED merah memiliki kandungan klorofil a sebesar 10,153 mg/L, klorofil b sebesar 4,744 mg/L, total klorofil 16,053 mg/L, karotenoid 5,893 mg/L. Selain itu juga memiliki kandungan pigmen fikobiliprotein yaitu fikosianin 0,055 mg/L, alofikosianin 0,037 mg/L dan fikoeritrin 0,218 mg/L. Eksrak spirulina dari hasil kultur dengan pencahayaan LED merah memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 105,4 ppm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Islam Nahdlatul Ulama Jepara dan LPPM Universitas Wahid Hasim yang telah membebarkan pendanaan penelitian dalam skema Penelitian Kolaborasi Antar Perguruan Tinggi Dalam Negeri. Peneliti mengucapkan terima kasih atas dukungan fasilitas penelitian dari Laboratorium Prodi Budidaya Perairan UNISNU Jepara, Laboratorium MSTP Undip Jepara, BBPBAP Jepara.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alagawany, M., Taha, A.E., Noreldin, A., El-Tarably, K.A. & Abd El-Hack, M.E. 2021. Nutritional applications of species of Spirulina and Chlorella in farmed fish: A review. *Aquaculture*, 42: 1–11. DOI: 10.1016/j.aquaculture.2021.736841
- Albrecht, S., Elpelt, A., Kasim, C., Reble, C., Mundhenk, L., Pischeda, H., Hedrich, S., Witzel, C., Lademann, J., Zastrow, L. & Beckers, I. 2019. Quantification and characterization of radical production in human, animal and 3D skin models during sun irradiation measured by EPR spectroscopy. *Free Radical Biology and Medicine*, 31:1–23. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.12.022
- Almomani, F., Judd, S., Bhosale, R.R., Shurair, M., Aljaml, K. & Khraisheh, M. 2019. Intergraded wastewater treatment and carbon bio-fixation from flue gases using Spirulina platensis and mixed algal culture. *Process Safety and Environmental Protection*, 124:240–50. DOI: 10.1016/j.psep.2019.02.009
- Arsenie, L.V., Lacatusu, I., Oprea, O., Bordei, N., Bacalum, M. & Badea, N. 2020. Azelaic acid-willow bark extract-panthenol-Loaded lipid nanocarriers improve the hydration effect and antioxidant action of cosmetic formulations. *Industrial Crops and Products*, 154 : p.112658. DOI: 10.1016/j.indcrop.2020.112658
- Booyens, M.J., Samuels, J.A. & Grobbelaar, S.S. 2021. LED there be light: The impact of replacing lights at schools in South Africa. *Energy and Buildings*, 235: p.110736. DOI: 10.1016/j.enbuild.2021.110736
- Cao, S., Han, T., Li, Q., Peng, L., Zhao, C., Tang, Y. & Xu, J. 2020. Tunable spectrum resemblance of LED lights for improving the photosynthetic action of Chinese Cabbages. *Life Sciences in Space Research*, 26:28-33. DOI: 10.1016/j.lssr.2020.03.009
- Chaikul, P., Sripisut, T., Chanpirom, S. & Ditthawutthikul, N. 2020. Anti-skin aging activities of green tea (*Camelliasinensis* (L) Kuntze) in B16F10 melanoma cells and human skin fibroblasts. *European Journal of Integrative Medicine*, 40: p.101212. DOI: 10.1016/j.eujim.2020.101212
- Chia, S.R., Chew, K.W., Leong, H.Y., Manickam, S., Show, P.L. & Nguyen, T.H.P., 2020. Sonoprocessing-assisted solvent extraction for the recovery of pigment-protein complex from *Spirulina platensis*. *Chemical Engineering Journal*, 398: p.125613. DOI: 10.1016/j.cej.2020.125613
- da Fontoura Prates, D., Duarte, J.H., Vendruscolo, R.G., Wagner, R., Ballus, C.A., da Silva Oliveira, W., Godoy, H.T., Barcia, M.T., de Moraes, M.G., Radmann, E.M. & Costa, J.A.V. 2020. Role of light emitting diode (LED) wavelengths on increase of protein productivity and free amino acid profile of *Spirulina* sp. cultures. *Bioresource technology*, 306: p.123184. DOI: 10.1016/j.biortech.2020.123184
- de Jesus, C.S., de Jesus Assis, D., Rodriguez, M.B., Menezes Filho, J.A., Costa, J.A.V., de Souza Ferreira, E. & Druzian, J.I. 2019. Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of *Spirulina* sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. *International journal of biological macromolecules*, 124: 1106-1114. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.016
- de Moraes Nogueira, A.O., Kokuszi, L.T.F., Cordeiro, A.P., Salgado, H.Z., Costa, J.A.V., Santos, L.O. & de Lima, V.R. 2021. *Spirulina* sp. LEB 18-extracted phycocyanin: Effects on liposomes' physicochemical parameters and correlation with antiradical/antioxidant properties. *Chemistry and Physics of Lipids*, 236: 105064.

- Faieta, M., Neri, L., Di Michele, A., Di Mattia, C.D. & Pittia, P. 2021. High hydrostatic pressure treatment of *Arthrospira (Spirulina) platensis* extracts and the baroprotective effect of sugars on phycobiliproteins. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 70: p.102693. DOI: 10.1016/j.ifset.2021.102693
- Haddada, M.B., Gerometta, E., Chawech, R., Sorres, J., Bialecki, A., Pesnel, S., Spadavecchia, J. & Morel, A.L. 2020. Assessment of antioxidant and dermoprotective activities of gold nanoparticles as safe cosmetic ingredient. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 189: p.110855. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2020.110855
- Hadiyanto, H., Khoironi, A., Dianratri, I., Suherman, S., Muhammad, F. & Vaidyanathan, S., 2021. Interactions between polyethylene and polypropylene microplastics and Spirulina sp. microalgae in aquatic systems. *Helijon*, 7(8): p.e07676. DOI: 10.1016/j.helijon.2021.e07676
- Han, P., Lu, Q., Zhong, H., Xie, J., Leng, L., Li, J., Fan, L., Li, J., Chen, P., Yan, Y. & Wei, F., 2021. Recycling nutrients from soy sauce wastewater to culture value-added *Spirulina maxima*. *Algal Research*, 53: p.102157. DOI: 10.1016/j.algal.2020.102157
- Jia, H., Zhao, S., Shi, Y., Zhu, K., Gao, P. & Zhu, L. 2019. Mechanisms for light-driven evolution of environmentally persistent free radicals and photolytic degradation of PAHs on Fe (III)-montmorillonite surface. *Journal of hazardous materials*, 362: 92-98. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2018.09.019
- Junique, L., Watier, L., Lejeune, H., Viudes, F., Deblieck, M. & Watier, D. 2021. Determination by response surface methodology of optimal protein and phycocyanin productivity conditions in *Arthrospira (Spirulina) platensis* under different combinations of photoperiod variation and lighting intensity. *Bioresource Technology Reports*, 15: p.100763.
- Kadam, A.R., Nair, G.B. & Dhoble, S.J. 2019. Insights into the extraction of mercury from fluorescent lamps: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7(4): p.103279. DOI: 10.1016/j.jece.2019.103279
- Kandi, S. & Charles, A.L. 2019. Statistical comparative study between the conventional DPPH spectrophotometric and dropping DPPH analytical method without spectrophotometer: Evaluation for the advancement of antioxidant activity analysis. *Food chemistry*, 287: 338-345. DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.02.110
- Lafarga, T., Fernández-Sevilla, J.M., González-López, C. & Acién-Fernández, F.G. 2020. Spirulina for the food and functional food industries. *Food Research International*, 137: p.109356. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.109356
- Leopoldino, C.C.L., de Mendonça, F.M., de Lima Siqueira, P.H. & Borba, É.L., 2019. The disposal of fluorescent lamps of industries of the metropolitan region of Belo Horizonte-MG. *Journal of cleaner production*, 233: 1486-1493. DOI: 10.1016/j.jclepro.2019.06.192
- Lim, H.R., Khoo, K.S., Chew, K.W., Chang, C.K., Munawaroh, H.S.H., Kumar, P.S., Huy, N.D. & Show, P.L. 2021. Perspective of Spirulina culture with wastewater into a sustainable circular bioeconomy. *Environmental Pollution*, 284: p.117492. DOI: 10.1016/j.envpol.2021.117492
- Othman, A., Norton, L., Finny, A.S. & Andreescu, S., 2020. Easy-to-use and inexpensive sensors for assessing the quality and traceability of cosmetic antioxidants. *Talanta*, 208: p.120473. DOI: 10.1016/j.talanta.2019.120473
- Pagels, F., Guedes, A.C., Amaro, H.M., Kijjoa, A. & Vasconcelos, V. 2019. Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications. *Biotechnology Advances*, 37(3):422-443. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2019.02.010
- Pan, B., Li, H., Lang, D. & Xing, B. 2019. Environmentally persistent free radicals: occurrence, formation mechanisms and implications. *Environmental Pollution*, 248:320-331.
- Purvis, K., Brittain, K., Joseph, A., Cisek, R. & Tokarz, D. 2019. Third-order nonlinear optical properties of phycobiliproteins from cyanobacteria and red algae. *Chemical Physics Letters*, 731: p.136599. DOI: 10.1016/j.cplett.2019.136599
- Ranjitha, S., Aroulmoji, V., Selvankumar, T., Sudhakar, C. & Hariharan, V. 2020. Synthesis and development of novel sensitizer from spirulina pigment with silver doped TiO<sub>2</sub> nano particles for bio-sensitized solar cells. *Biomass and Bioenergy*, 141: p.105733. DOI: 10.1016/j.biombioe.2020.105733

- Rathnasamy, S.K., sri Rajendran, D., Balaraman, H.B. & Viswanathan, G. 2019. Functional deep eutectic solvent-based chaotic extraction of phycobiliprotein using microwave-assisted liquid-liquid micro-extraction from *Spirulina (Arthrospira platensis)* and its biological activity determination. *Algal Research*, 44: p.101709. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101709
- Ren, H.T., jing Zhao, X., Huang, Y. & li Xiong, J., 2021. Combined effect of Spirulina and ferrous fumarate on growth parameters, pigmentation, digestive enzyme activity, antioxidant enzyme activity and fatty acids composition of Yellow River carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Reports*, 21: p.100776. DOI: 10.1016/j.aqrep.2021.100776
- Rizzi, V., Gubitosa, J., Fini, P., Fraix, A., Sortino, S., Agostiano, A. & Cosma, P., 2021. Development of Spirulina sea-weed raw extract/polyamidoamine hydrogel system as novel platform in photodynamic therapy: Photostability and photoactivity of chlorophyll a. *Materials Science and Engineering: C*, 119: p.111593. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111593
- Rodrigues, R.D.P., de Lima, P.F., de Santiago-Aguiar, R.S. & Rocha, M.V.P., 2019. Evaluation of protic ionic liquids as potential solvents for the heating extraction of phycobiliproteins from *Spirulina (Arthrospira) platensis*. *Algal Research*, 38:p.101391. DOI: 10.1016/j.algal.2018.101391
- Rodrigues, R.D.P., de Silva, A.S., Carlos, T.A.V., Bastos, A.K.P., de Santiago-Aguiar, R.S. & Rocha, M.V.P. 2020. Application of protic ionic liquids in the microwave-assisted extraction of phycobiliproteins from *Arthrospira platensis* with antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*, 252: p.117448. DOI: 10.1016/j.seppur.2020.117448
- Rodríguez, I.V., 2014. Publicaciones españolas para la fundamentación de un marco teórico sobre los estudios de usuarios de información. *Investigación Bibliotecológica: archivonomía, bibliotecología e información*, 28(63): 223-257.
- Romanet, R., Sarhane, Z., Bahut, F., Uhl, J., Schmitt-Kopplin, P., Nikolantonaki, M. & Gougeon, R.D. 2021. Exploring the chemical space of white wine antioxidant capacity: A combined DPPH, EPR and FT-ICR-MS study. *Food Chemistry*, 355: p.129566.
- Shanthi, G., Premalatha, M. & Anantharaman, N. 2021. Potential utilization of fish waste for the sustainable production of microalgae rich in renewable protein and phycocyanin-*Arthrospira platensis/Spirulina*. *Journal of Cleaner Production*, 294: p.126106. DOI: 10.1016/j.jclepro.2021.126106
- Soni, R.A., Sudhakar, K. & Rana, R.S. 2019. Comparative study on the growth performance of *Spirulina platensis* on modifying culture media. *Energy Reports*, 5: 327-336. DOI: 10.1016/j.egyr.2019.02.009
- Vigliante, I., Mannino, G. & Maffei, M.E. 2019. OxiCyan®, a phytocomplex of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) and spirulina (*Spirulina platensis*), exerts both direct antioxidant activity and modulation of ARE/Nrf2 pathway in HepG2 cells. *Journal of Functional Foods*, 61: p.103508.
- Yang, J., Chen, J., Hao, Y. & Liu, Y. 2021. Identification of the DPPH radical scavenging reaction adducts of ferulic acid and sinapic acid and their structure-antioxidant activity relationship. *Lwt*, 146: p.111411. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111411
- Yap, E.S.P., Uthairatanakij, A., Laohakunjit, N., Jitareerat, P., Vaswani, A., Magana, A.A., Morre, J. & Maier, C.S. 2021. Plant growth and metabolic changes in 'Super Hot'chili fruit (*Capsicum annuum*) exposed to supplemental LED lights. *Plant Science*, 305: p.110826. DOI: 10.1016/j.plantsci.2021.110826
- Yuan, D., Yao, M., Wang, L., Li, Y., Gong, Y. & Hu, Q. 2019. Effect of recycling the culture medium on biodiversity and population dynamics of bio-contaminants in *Spirulina platensis* mass culture systems. *Algal research*, 44: p.101718. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101718
- Zhao, S., Miao, D., Zhu, K., Tao, K., Wang, C., Sharma, V.K. & Jia, H. 2019. Interaction of benzo [a] pyrene with Cu (II)-montmorillonite: generation and toxicity of environmentally persistent free radicals and reactive oxygen species. *Environment international*, 129: 154-163. DOI: 10.1016/j.envint.2019.05.037
- Zielinska, O.A., Mayhorn, C.B. & Wogalter, M.S. 2017. Connected hazard and perceived importance of fluorescent, neon, and standard safety colors. *Applied ergonomics*, 65: 326-334. DOI: 10.1016/j.apergo.2017.07.011