



## PENENTUAN KANDUNGAN PIGMEN FIKOBILIPROTEIN EKSTRAK *Spirulina platensis* DENGAN TEKNIK EKSTRAKSI BERBEDA DAN UJI TOKSISITAS METODE BSLT

Shofa Fariyah<sup>\*)</sup>, Bambang Yulianto, dan Ervia Yudiati

Program Studi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro  
Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698

Email : Journalmarineresearch@gmail.com

### Abstrak

*Spirulina platensis* merupakan mikroalga dengan kandungan pigmen tertinggi yaitu fikosianin. Pemanfaatan fikosianin sebagai bahan baku industri sudah banyak digunakan. Lebih jauh lagi, keberhasilan ekstraksi pigmen fikosianin mengarah kepada potensinya sebagai antitumor, antiinflamasi, antimikroba, dan antioksidan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan pigmen fikobiliprotein mikroalga *Spirulina platensis strain* BBPBAP dan menentukan konsentrasi dan nilai LC<sub>50</sub> ekstrak mikroalga *Spirulina platensis strain* BBPBAP dengan metode uji BSLT dengan teknik ekstraksi waktu *freezing* yang berbeda. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen laboratorium dengan analisis data secara deskriptif. Uji kandungan pigmen fikobiliprotein dilakukan dengan uji spektrofotometri dan uji toksisitas ekstrak *Spirulina platensis* dilakukan dengan menghitung nilai LC<sub>50</sub>-24 jam dengan metode uji BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Hasil uji kandungan pigmen fikobiliprotein *Spirulina platensis strain* BBPBAP Jepara didapatkan pigmen fikobiliprotein tertinggi yaitu pigmen allofikosianin serta perlakuan tanpa *freezing* (K) memiliki kandungan tertinggi di antara dua perlakuan lain, yaitu sebesar fikoeitrin = 28 mg/ml, fikosianin = 81 mg/ml, dan allo-fikosianin = 97 mg/ml. Hasil uji toksisitas BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) ekstrak *Spirulina platensis* dengan pelarut aquades memperlihatkan bahwa nilai LC<sub>50</sub>-24 jam sebesar 0,176 ppm.

**Kata kunci:** *Spirulina platensis*, pigmen fikobiliprotein, LC<sub>50</sub>-24 jam

### Abstract

*Spirulina platensis* is a microalgae with the highest pigment content of phycocyanin. Utilization of phycocyanin as an industrial raw material is already widely used. Furthermore, the successful extraction of phycocyanin pigment leads to its potential as an antitumor, anti-inflammatory, antimicrobial, and antioxidant. The aims of this research were to determine the pigment content phycobiliprotein and to determine the concentration and LC<sub>50</sub> values of extract *Spirulina platensis* microalgae strains BBPBAP with the different extraction technique. The method used is an experimental laboratory with descriptive data analysis. The concentration of phycobiliprotein were measured spectrometrically and toxicity test extract *Spirulina platensis* calculated by LC<sub>50</sub>-24 hour with BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) methodes. Test results phycobiliprotein pigment content of *Spirulina platensis strain* BBPBAP Jepara without freezing treatment (K) has the highest content among the two other treatments, and the highest content is allo-phycocyanin. The concentration of phycoerythrin = 28 mg / ml, phycocyanin = 81 mg / ml, and allo-phycocyanin = 97 mg / ml, respectively. The results of BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) extract *Spirulina platensis* showed that the LC<sub>50</sub>-24 hour is 0,176 ppm.

**Key words:** *Spirulina platensis*, phycobiliprotein pigments, LC<sub>50</sub>-24 hour

### PENDAHULUAN

*Spirulina platensis* salah satu jenis fitoplankton yang berasal dari golongan Cyanophyta (alga hijau biru) yang sering dimanfaatkan untuk berbagai bahan baku

industri, di antaranya untuk pakan alami, makanan tambahan (suplemen), farmasi, dan kosmetika. *Spirulina platensis* juga tinggi kandungan pigmennya, di antaranya 1,6% klorofil-a, 18% fikosianin, 17% β-karoten,

dan 20-30%  $\gamma$ -linoleic acid dari total asam lemak (Sheth, 2006). Saleh *et al.* (2011) juga menambahkan, *Spirulina platensis* mengandung senyawa fikobiliprotein yang terdiri dari fikosianin, allo-fikosianin, dan fikoeritrin dengan kandungan tertinggi fikosianin. Arlyza (2005) melaporkan keberhasilannya dalam ekstraksi pigmen fikosianin, salah satu pigmen dari *Spirulina platensis* yang merupakan pewarna alami dan mempunyai aktivitas antioksidan tinggi. Fikosianin berfungsi untuk menghambat tumor nekrosis dan melindungi sel-sel saraf karena karakteristiknya sebagai antioksidan (Romay *et al.*, 1998, 2003; Reddy *et al.*, 2000). Fikosianin juga dapat digunakan sebagai zat warna alami serta sebagai pewarna pada reaksi imunologi deteksi HIV (Tri-Panji *et al.*, 2003). Fikosianin yang terkandung dalam 100 gram *Spirulina powder* sebesar 15,6 gram atau sekitar 15,6% (Koru *et al.*, 2008).

Untuk mengetahui ketoksikan fikosianin, perlu dilakukan uji toksisitas terhadap ekstrak pigmen kasar *Spirulina platensis* dengan metode uji BSLT. BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) dilakukan pada tahap pendahuluan dalam penapisan bahan yang diduga sebagai antikanker dan antitumor sebelum melakukan uji *in vitro* menggunakan sel lestari tumor (Widjhati *et al.*, 2004). Pengujian *brine shrimp bioassay* menggunakan naupli *Artemia salina* umur 24 jam (Meyer *et al.*, 1982; Kanwar, 2007). *Artemia salina* digunakan karena kesensitifannya terhadap bahan kimia (Agustini, 2012).

Penelitian Yudiati *et al.* (2011), tentang pigmen kasar *Spirulina platensis* menunjukkan adanya kemampuan yang sinergis antara antioksidan dan antikanker. Semakin rendah nilai  $LC_{50}$  maka suatu senyawa mempunyai potensi yang lebih besar sebagai antitumor/kanker (Meyer *et al.*, 1982). Penelitian tentang toksisitas fikosianin terhadap *Spirulina platensis* yang berasal dari *strain* BBPAP Jepara belum

pernah dilaporkan sebelumnya sehingga penelitian ini perlu dilakukan.

## MATERI DAN METODE

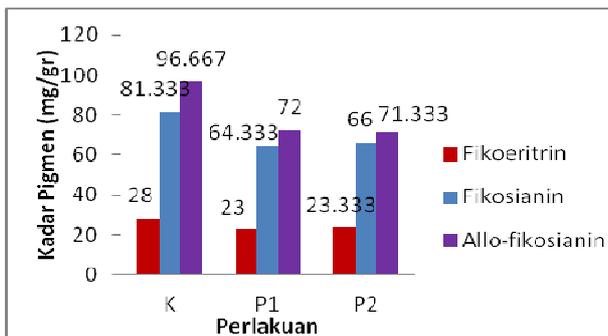
Bahan uji yang digunakan adalah bubuk *Spirulina platensis* dan hewan uji berupa nauplius *Artemia salina* berumur 24 jam pada stadia instar III. Jumlah hewan uji yang digunakan adalah 10 ekor untuk tiap wadah yang berupa vial berukuran 12 ml.

Metode dalam mendapatkan ekstrak pigmen kasar *Spirulina platensis* dalam penelitian ini merupakan modifikasi dari metode Arlyza (2005). Sebanyak 10 mg bubuk *Spirulina platensis* terlebih dahulu direndam dalam 10 ml aquades lalu dilarutkan agar homogen dengan menggunakan vortex selama 20 detik sebanyak tiga kali. Kemudian membuat menjadi tiga perlakuan berbeda, yaitu K: tanpa *freezing* (kontrol), P1: *freezing* 24 jam, P2: *freezing* 48 jam. Perlakuan K (kontrol) yaitu perendaman bubuk *Spirulina platensis* pada suhu ruang (26-29°C) selama 2 jam. Perlakuan P1 yaitu perendaman bubuk *Spirulina platensis* di dalam freezer dengan suhu -4°C selama 24 jam. Perlakuan P2 yaitu perendaman bubuk *Spirulina platensis* di dalam freezer dengan suhu -4°C selama 48 jam. Masing-masing perlakuan diberi tiga pengulangan. Untuk perlakuan dengan *freezing*, selanjutnya dilakukan pencairan pada suhu ruang (*thawing*). Dilanjutkan dengan proses sentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Perhitungan kadar pigmen fikobiliprotein dilakukan dengan mengukur serapan supernatannya pada panjang 565 nm, 620 nm, dan 650 nm menggunakan spektrofotometer Uv-vis (Agustini, 2012). Data kandungan pigmen fikobiliprotein *Spirulina platensis* dilakukan tabulasi data dan dianalisis secara deskriptif antara perlakuan yang diberikan dengan jumlah pigmen fikobiliprotein yang terkandung setelah diberi perlakuan kemudian dibandingkan hasil dari tiap perlakuan.

Uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) berdasarkan metode Meyer *et al.* (1982). Nauplius *Artemia salina* dipaparkan terhadap larutan ekstrak *Spirulina platensis* dengan konsentrasi 13,847 ppm; 2,065 ppm; 0,308 ppm; 0,046 ppm, dan 0,0068 ppm dengan pengulangan masing-masing sebanyak tiga kali. Percobaan ini dilakukan selama 24 jam dan mortalitas diamati pada waktu 15 menit, 30 menit, 1 jam, 2 jam, 4 jam, 8 jam, 16 jam, dan 24 jam dengan cara menghitung jumlah nauplius yang mati. Nilai LC<sub>50</sub>-24 jam didapatkan dengan analisis probit dengan metode Finney (1978) dan divalidasi dengan *software EPA Probit Version 1.5*.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar pigmen fikosianin perlakuan dengan *freezing*, yaitu P1 adalah 64,333 mg/gr dan P2 adalah 66 mg/gr. Kadar pigmen kedua perlakuan tersebut relatif sama. Dibandingkan dengan dua perlakuan tersebut, kadar pigmen fikosianin perlakuan kontrol (K) menunjukkan hasil yang lebih baik dan lebih tinggi yaitu sebesar 81,333 mg/gr.



Pada pengukuran nilai absorbansi pigmen fikobiliprotein *Spirulina platensis*, pigmen fikosianin memiliki nilai absorbansi tertinggi dari tiap perlakuan. Namun setelah dilakukan perhitungan kadar pigmen fikobiliprotein *Spirulina platensis strain* BBPBAP, justru allo-fikosianin yang mempunyai kadar tertinggi dari ketiga perlakuan yang diberikan. Hasil penelitian tersebut agak berbeda dari pendapat peneliti sebelumnya yang menyatakan bahwa

senyawa fikobilin pada *Spirulina* adalah fikosianin, fikoeitritin, dan allo-fikosianin dan yang tertinggi adalah fikosianin (Henrikson, 2000; Arlyza, 2005; Prasanna *et al.*, 2010; Saleh *et al.*, 2011). Hal ini dapat dipengaruhi oleh kondisi kultur *Spirulina platensis* yang mempengaruhi komponen kimia yang dikandungnya. Kandungan fikosianin dalam biomassa sel tergantung banyak sedikitnya suplai nitrogen yang dikonsumsi oleh *Spirulina*. Mishra *et al.* (2008) berpendapat bahwa berat molekul, posisi, dan intensitas maksimum penyerapan fikosianin tergantung pada keadaan agregasi yang dipengaruhi oleh parameter seperti pH larutan, suhu, konsentrasi alga, dan asal alga.

Dari ketiga perlakuan yang diberikan, perlakuan kontrol (K) memiliki kadar pigmen tertinggi dari perlakuan lainnya yang menggunakan metode *freezing* dan *thawing*. Hal ini berbeda dengan pendapat Antelo *et al.* (2010) yang menyatakan bahwa fikosianin akan stabil apabila diisolasi pada kondisi suhu rendah karena *chromoprotein* (polipeptida  $\alpha$  dan  $\beta$ ) sensitif terhadap suhu, sehingga hancurnya sel tidak diikuti dengan proses denaturasi. Suhu inkubasi yang digunakan pada ekstraksi pigmen kasar fikosianin adalah  $-4^{\circ}\text{C}$  dan  $25-29^{\circ}\text{C}$ . Namun kadar pigmen fikosianin tertinggi berada pada suhu inkubasi  $25-29^{\circ}\text{C}$  sehingga mengekstrak pigmen kasar fikosianin lebih optimal di suhu ruang daripada di suhu rendah. Tingginya kadar pigmen fikosianin pada perlakuan tanpa *freezing* dan *thawing* dapat disebabkan oleh *strain Spirulina platensis* yang digunakan berasal dari perairan tropis dan hidup di kondisi lingkungan tropis sehingga pertumbuhannya optimal pada kisaran suhu daerah tropis. *Strain* *Spirulina* memiliki rentang kesensitifan maksimal yang berbeda, tergantung dari suhu optimal pertumbuhannya (Vonshak, 1997). Mishra *et al.* (2008) berpendapat, suhu mempengaruhi komposisi biokimia dari *Spirulina*.

Fikosianin merupakan protein yang bersifat larut air yang dapat dibebaskan secara sederhana oleh penghancuran

mekanis, seperti perlakuan pembekuan kemudian dihancurkan (*freeze-thaw*). Tujuan utama proses *freeze-thaw* adalah untuk *stressing* sel supaya mempercepat pembebasan pigmen dari sel setelah proses penumbukan. Tetapi ternyata setelah mengalami proses *freezing* dan *thawing*, hasil pigmen yang didapat kurang optimal. Hal ini diduga karena pada proses penumbukan pecahnya sel sudah sempurna sehingga pigmen yang dihasilkan sudah maksimal pada saat penumbukan.

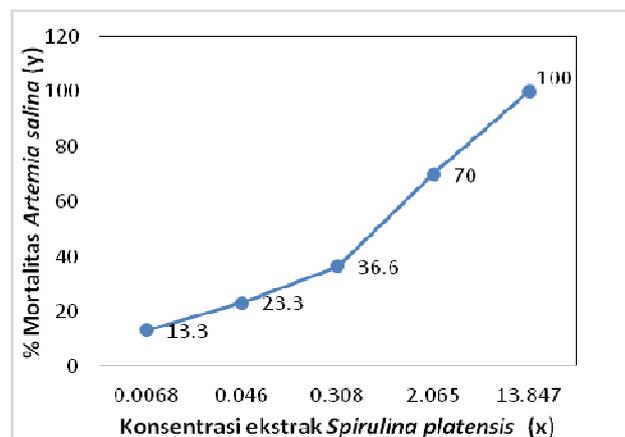
Menurut Ansel (1989), pemilihan pelarut dalam ekstraksi berdasarkan kemampuannya melarutkan zat aktif dalam jumlah maksimum dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi harus dapat menarik komponen aktif dari campuran dalam sampel (Gamse, 2002). Pada penelitian ini, proses ekstraksi *Spirulina platensis* dilakukan secara maserasi dengan menggunakan pelarut aquades. Proses ini sangat menguntungkan dalam kaitannya dengan keamanan pangan. Melalui proses perendaman sampel tersebut, terjadi pemecahan dinding dan membran sel akibat perbedaan tekanan di dalam dan di luar sel. Senyawa bioaktif yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut dan ekstrak senyawa akan sempurna karena dapat diatur lamanya perendaman yang dilakukan (Rusdi dalam Pratiwi, 2009).

Fikosianin, allo-fikosianin, dan fikoeritrin merupakan senyawa fikobiliprotein yang terdapat dalam *Spirulina platensis*, dengan kandungan tertinggi fikosianin (Saleh *et al.*, 2011). Menurut Carra & Heocha (1976), biliprotein dapat terekstrak dalam air ataupun dalam larutan garam lemah dari sel alga yang pecah, seperti halnya globular lain. Hal ini didukung oleh pendapat Sedjati *et al.* (2012) yang menyatakan bahwa senyawa polar yang dapat terambil oleh pelarut air dalam *Spirulina platensis* kering terdiri dari golongan fikobiliprotein dan protein-protein yang bersifat larut air. Hal ini dikarenakan

fikobiliprotein merupakan senyawa polar sehingga larut dalam pelarut polar.

Penggunaan pelarut air dalam mengekstraksi fikosianin dalam *Spirulina* terhitung aman dan dapat menarik zat-zat aktifnya. Boussiba dan Richmond (1979) berpendapat, penggunaan air sebagai pelarut dapat akan lebih mudah melarutkan biomassa sel *Spirulina*. Menurut Fretes *et al.* (2012), ketidakstabilan pigmen dapat dipengaruhi oleh cahaya, pH, suhu, oksigen, dan pelarut alkohol. Berbeda dengan metanol yang termasuk pelarut organik dan bersifat toksik, air bukan pelarut organik dan tidak bersifat toksik. Karena air tidak memiliki daya toksik, maka tidak perlu dilakukan uji pendahuluan toksisitas pelarut. Selain itu, nilai ekonomis air lebih murah apabila dibandingkan dengan jenis pelarut lain. Walaupun terkadang penggunaan pelarut air mengakibatkan ketidakstabilan warna yang disebabkan oleh sifat air yang sensitif terhadap suhu dan pH, apabila dibandingkan dengan pelarut buffer (Jos *et al.*, 2011).

Berdasarkan hasil penelitian, persentase mortalitas nauplius *Artemia salina* tertinggi terdapat pada konsentrasi 13,847 ppm, sedangkan persentase mortalitas terendah terdapat pada konsentrasi 0,0068 ppm. Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula mortalitas nauplius *Artemia salina* yang terjadi.



Analisis data probit untuk mengetahui nilai  $LC_{50-24}$  jam dengan menggunakan perangkat lunak *EPA Probit Analysis Program Version 1.5* menunjukkan bahwa ekstrak uji menghasilkan nilai  $LC_{50-24}$  jam < 1000 ppm. Hasil pengolahan data menunjukkan bahwa nilai  $LC_{50-24}$  jam dari ekstrak *Spirulina platensis* dengan pelarut aquades sebesar 0,176 ppm, berada di antara 0,170-0,639 ppm.

| Jenis Ekstrak              | Nilai $LC_{50-24}$ Jam Manual (ppm) | Nilai $LC_{50-24}$ Jam Software (ppm) | Limit $LC_{50-24}$ Jam Software (ppm) |
|----------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Spirulina platensis</i> | 0,176                               | 0,329                                 | 0,170-0,639                           |

Persentase kematian *Artemia salina* terendah terjadi pada konsentrasi 0,0068 ppm sebesar 13,3%. Sedangkan tingkat kematian *Artemia salina* yang ditimbulkan ekstrak *Spirulina platensis* menggunakan pelarut aquades sebesar 100% terjadi pada konsentrasi 13,847 ppm. Grafik mortalitas (%) *Artemia salina* pada berbagai konsentrasi ekstrak *Spirulina platensis* terlihat bahwa semakin besar nilai konsentrasi ekstrak, mortalitas pada *Artemia salina* juga semakin besar. Hal ini sesuai dengan Harborne (1994) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka sifat toksiknya akan semakin tinggi. Tingginya persentase kematian *Artemia salina* pada konsentrasi uji 13,847 ppm menunjukkan adanya aktivitas ketoksikan ekstrak *Spirulina platensis* dengan pelarut aquades.

*Spirulina* sp. mengandung protein 60% yang terdiri dari 12 asam amino esensial, 10 vitamin, dan juga sifat terapi seperti pigmen fikosianin yang bersifat antioksidan dan antiinflamatori,  $\gamma$ -asam linoleat (GLA) yang berfungsi dalam penurunan kolesterol, serta polisakarida yang memiliki efek antitumor, antiviral, dan dapat memperbaiki fungsi imunitas seluler non-spesifik dan fungsi humoral spesifik, termasuk pula hemosit dan sel-sel fagositosis

(Boajiang, 1994; Desmorieux and Decaen, 2005). Pigmen yang terkandung dalam *Spirulina platensis* diduga berpotensi sebagai penghambat sel antitumor atau antikanker (Rizkina *et al.*, 2013), seperti yang terlihat pada Lampiran 10. Senyawa yang diduga memiliki aktifitas antikanker harus diujikan terlebih dahulu pada hewan percobaan, seperti *Artemia salina* Leach. Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman yang diketahui memiliki aktivitas antimikroba, berpotensi pula sebagai antikanker, karena diduga toksisitas yang dimilikinya dapat pula bekerja pada fase tertentu dari siklus sel kanker (Lisdawati, 2002).

Aktivitas ketoksikan suatu ekstrak tanaman ditentukan dengan melihat nilai  $LC_{50-24}$  jam (Rizkina *et al.*, 2013). Perhitungan probit secara manual ekstrak *Spirulina platensis* dengan pelarut aquades mendapatkan harga  $LC_{50-24}$  jam terjadi pada konsentrasi 0,176 ppm. Menurut Meyer *et al.* (1982), penggunaan metoda BSLT dapat mengetahui bahwa suatu ekstrak yang mempunyai  $LC_{50-24}$  jam dibawah 30 ppm dianggap sangat toksik, dianggap toksik 30-1000 ppm, dan dianggap tidak toksik jika nilai  $LC_{50-24}$  jam di atas 1000 ppm. Dengan membandingkan harga  $LC_{50}$  hasil ekstraksi dengan penelitian Meyer diketahui bahwa ekstrak *Spirulina platensis* dengan pelarut air (0,176 ppm) dianggap sangat aktif/toksik karena nilai tersebut di bawah 30 ppm. Jumlah mortalitas *Artemia salina* bermakna terhadap potensi aktivitasnya sebagai antikanker (Ghisalberti, 1993; Anderson, 1991). Menurut Wuryani (2005), uji toksisitas akut menggunakan *Artemia salina* Leach dapat digunakan sebagai uji pendahuluan pada penelitian yang mengarah ke uji sitotoksik, karena ada kaitan antara uji toksisitas akut dengan uji sitotoksik jika harga  $LC_{50}$  dari uji toksisitas akut < 1000  $\mu\text{g/ml}$ . Senyawa toksik pada BSLT kemungkinan bersifat sitotoksik dan dapat dikembangkan lebih jauh untuk pengobatan antikanker.



## KESIMPULAN

Hasil uji kandungan pigmen fikobiliprotein *Spirulina platensis* strain BBPBAP tertinggi terdapat pada perlakuan K (kontrol) dengan kadar pigmen masing-masing sebesar fikoeitrin sebesar 28 mg/gr, fikosianin 81,333 mg/gr, dan allo-fikosianin 96,667 mg/gr. Hasil uji toksisitas ekstrak *Spirulina platensis* strain BBPBAP menggunakan pelarut aquades terhadap *Artemia salina* dengan harga LC<sub>50</sub>-24 jam sebesar 0,176 ppm dan dianggap sangat aktif/toksik karena memiliki nilai LC<sub>50</sub> < 30 ppm.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis menyampaikan terimakasih kepada Dr. Ir. Bambang Yulianto, DEA dan Ir. Ervia Yudiati M.Sc. selaku dosen pembimbing yang telah memberikan pengarahan dalam menyelesaikan jurnal ilmiah ini. Serta semua pihak yang telah memberikan bantuan dan fasilitas dalam penulisan jurnal ilmiah ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agustini, NWS. 2012. *Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Hayati Pigmen Fikobiliprotein dari Ekstrak Spirulina platensis*. Seminar Nasional IX Pendidikan Biologi FKIP UNS.
- Anderson, JE. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-Top Bioassays and Human Tumour Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Phytochem. J. Anal. Vol. 2*.
- Antelo, FS., Anschau, A., Costa, JAV., Kalil, SJ. 2010. Extraction and Purification of C-phycoyanin from *Spirulina platensis* in Conventional and Integrated Aqueous Two-phase Systems. *J. Braz. Chem. Soc. 2010, 21, 921-926*.
- Arlyza, IS. 2005. Isolasi Pigmen Biru Phycocyanin dari Mikroalga *Spirulina platensis*. *Oceanologi dan Limnologi di Indonesia. Pusat Penelitian Oceanografi-LIPI, No. 38: 79-92*.
- Boajiang, G. 1994. *Study on Effect and Mechanism of Polysaccharida of Spirulina platensis on Body Immune Function Improvement*. Book of Abstracts. Second Asia Pacific Conference on Algal Biotechnology. p. 24.
- Carra, P. and Heocha, C. 1976. *The Photosynthetic Pigments*. In: Margalith PZ. (Ed). *Pigment Microbiology*. Cambridge: England. p. 84-88.
- Desmorieux, H. and Decaen, N. 2005. Convective Drying of *Spirulina* In Thin Layer. *Journal of Food Engineering 66: 497-503*.
- Finney, DJ. 1971. *Probit Analysis. Third Edition*. Cambridge Press: New York, NY. 668 pp.
- Ghisalberti, EL. 1993. "Detection and Isolation of Bioactive Natural Products", *Bioactive Natural Products; Detective, Isolation, and Structural Determination*, Ed. Steven M. Collegate and Russel J. Molyneux. CRC Press Inc.: London. 605 pp.
- Harborne, JB. 1994. *The Flavonoids*. Chapman and Hall: London.
- Henrikson, R. 2009. *Earth Food Spirulina. 6<sup>th</sup> ed*. Ronore Interprise Inc.: Hawaii. p. 37.
- Jos, B., Setyawan, PE., dan Satria, Y. 2011. Optimalisasi Ekstraksi dan Uji Stabilitas Phycocyanin dari Mikroalga *Spirulina platensis*. *Jurnal Teknik Vol. 32, No.3*.
- Kanwar, AS. 2007. Brine Shrimp *Artemia salina* a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. Review. *Journal of Chinese Clinical Medicine*.
- Lisdawati, V. 2002. *Buah Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa Boerl), Toksisitas, Efek Antioksidan, dan Efek Antikanker Berdasarkan Uji Penapisan Farmakologi*.



- <http://ver.mahkotadewa.com/VFC/Vivi.htm>. diakses tanggal 3 Juni 2007.
- Mishra, SK., Shrivastav, A., Mishra, S. 2008. Effect of Preservatives for Food Grade C-PC from *Spirulina platensis*. *Process Biochemistry* 43: 339-345.
- Meyer, BN., Ferrigni, NR., Putman, JE., Jacobsen, LB., Nicols, DE., and McLaughlin, JL. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Planta Medica* 45: 34-35.
- Prasanna, R., Sood, A., Jaiswal, P., Nayak, S., Gupta, V., Chaudhary, V., Joshi, M., and Natarjan, C. 2010. Rediscovering Cyanobacteria as Valuable Sources of Bioactive Compounds. *Appl. Biochem. Microbiol.* 46 (2): 119-134.
- Reddy, CM., Bhat, VB., Kinarmay, G., Reddin, MN., Reddana, P., and Mediastla, KM. 2000. Selective Inhibition of Cyclooxygenase-2 by c-phycoyanin, A Biliprotein from *Spirulina platensis*. *Biochemical and Biophysical Communication* 277: 597-603.
- Richmond, A. 1988. *Spirulina*. In: Borowitzka, AM. and Borowitzka, LJ. (Eds). *Microalgal Biotechnology*. Cambridge University Press.: Cambridge. p. 85-121
- Rizkina, RA., Yudiati, E., Sedjati, S. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Pigmen Kasar Mikroalga *Spirulina platensis* dengan Metode Uji BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). *Journal of Marine Research Volume 2, Nomor 1, p. 25-31*.
- Romay, C., Armesto, J., Ramirez, D., Gonzalez, R., Ledon, N., and Garcia, I. 1998. Antioxidant and Antiinflammatory Properties of C-phycoyanin from Blue-green Algae. *Inflammatory Research* 47(1): 36-41.
- Romay, C., Gonzalez, R., Ledon, N., Ramirez, D., Rimbau, V. 2003. C-phycoyanin: A Biliprotein with Antioxidant, Anti-inflammatory, and Neuroprotective Effects. *Current Protein and Peptide Science* 4: 207-216.
- Saleh, AM., Dhar, DW., and Singh, PK. 2011. Comparative Pigment Profiles of Different *Spirulina* Strains. *Res. Biotechnol.* 2(2): 67-74.
- Sedjati, S., Yudiati, E., dan Suryono. 2012. Profil Pigmen Polar dan Non Polar Mikroalga Laut *Spirulina* sp. dan Potensinya sebagai Pewarna Alami. *Jurnal Ilmu Kelautan Vol. 17(3): 176-181*.
- Sheth, K. 2006. *Spirulina for Nutrition*. Ported to Wordpress. Web Hosting (26 April 2008). p. 1-3.
- Tri-Panji, Suharyanto, dan Tanto, Z. 2003. *Spirulina, "Magic Food" - Makanan Fungsional Multifungsi*. Seminar Nasional Pangan Fungsional.
- Widjhati, R., Supriyono, A., dan Subintoro. 2004. *Pengembangan Senyawa Bioaktif dari Biota Laut*. *Forum Bioteknologi Kelautan dan Perikanan*. Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Departemen Kelautan dan Perikanan. p.13.
- Yudiati, E., Sedjati, S., Rizkina, RA., dan Sunarsih. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol dan Pigmen Kasar *Spirulina* sp. *Jurnal Ilmiah Ilmu Kelautan Vol 16(4): 187-192 pp*.