

UJI AKTIVITAS DAYA ANTIOKSIDAN BIOPIGMENT PADA FRAKSI ASETON DARI MIKROALGA *Chlorella vulgaris*

Tina Dewi Rosahdi*, Yuli Susanti, dan Dede Suhendar

*tina_dr@uinsgd.ac.id

Abstrak

Biopigmen merupakan pewarna alami yang dihasilkan dari organisme hidup. Sayuran dan buah-buahan merupakan sumber biopigmen, selain itu mikroalga pada saat ini juga merupakan sumber biopigmen yang potensial. Mikroalga Chlorella vulgaris adalah jenis ganggang hijau atau Chlorophyta yang diketahui sebagai sumber biopigmen, yaitu klorofil yang digunakan pada proses fotosintesis. Peran biopigmen bagi manusia salah satunya adalah sebagai antioksidan. Antioksidan yaitu senyawa yang pada konsentrasi rendah dapat mencegah atau memperlambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi keberadaan dan jenis biopigmen serta aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (diphenilpicrylhydrazil). Ekstraksi biopigmen dari Chlorella vulgaris dilakukan dengan metode maserasi menggunakan aseton. Kemudian dilakukan kromatografi lapis tipis untuk mengidentifikasi keberadaan biopigmen dan spektrofotometer UV-Vis untuk penentuan secara kuantitatif jenis biopigmen yang terdapat pada mikroalga Chlorella vulgaris. Hasil penelitian menunjukkan bahwa biopigmen yang terkandung dari mikroalga Chlorella vulgaris adalah klorofil. Nilai IC_{50} vitamin C sebagai pembanding diperoleh sebesar 20.14 ppm sedangkan nilai IC_{50} dari fraksi aseton sebesar 57,25 ppm. Hasil ini menunjukkan bahwa untuk meredam radikal bebas sebesar 50% membutuhkan konsentrasi antioksidan sebesar 57,25 ppm.

Kata-kata kunci: *Biopigmen, Chlorella vulgaris, antioksidan, DPPH, IC_{50}*

Pendahuluan

Biopigmen dihasilkan dari organisme hidup, maka kelangsungan bahan bakunya dapat dipertahankan (*renewable resorces*). Selain dapat

diperoleh dari sayuran, buah-buahan, hewan dan mineral, biopigmen juga dapat diperoleh dari mikroalga. Mikroalga merupakan tumbuhan air yang berukuran mikroskopik, memiliki berbagai potensi yang dapat

dikembangkan sebagai sumber pakan, pangan, dan bahan kimia lainnya. Kandungan alami mikroalga terdiri dari zat gizi dan beberapa senyawa aktif seperti β -karoten, provitamin, mineral, pigmen dan asam lemak. Budidaya mikroalga sangat menarik karena tingkat pertumbuhannya yang tinggi, mampu menyesuaikan pada kondisi lingkungan yang bervariasi. Mikroalga merupakan tumbuhan thalus yang berklorofil dan mempunyai pigmen tumbuhan yang dapat menyerap cahaya matahari melalui proses fotosintesis. *Chlorella vulgaris* merupakan mikroalga jenis klorofita atau alga hijau. Pada umumnya, klorofita atau alga hijau memiliki biopigmen yang digunakan untuk berfotosintesis yaitu klorofil disamping adanya biopigmen karotenoid (karoten dan xantofil). Alga hijau didominasi warna hijau karena berasal dari pigmen klorofil a dan klorofil b.

Selain berperan sebagai biopigmen, klorofil diketahui dapat berpotensi sebagai antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang pada konsentrasi rendah mampu mencegah atau memperlambat reaksi oksidasi yang disebabkan oleh radikal bebas. Tubuh kita memerlukan suatu substansi penting yakni antioksidan yang dapat membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas dengan meredam dampak negatif senyawa ini. Namun, hal ini tergantung terhadap pola hidup dan pola makan kita yang harus benar. Konsumsi antioksidan yang memadai dapat mengurangi terjadinya berbagai penyakit seperti kanker, kardiovaskuler, katarak, masalah pencernaan serta penyakit degeneratif lain. Untuk menguji adanya aktivitas antioksidan dapat menggunakan metode *diphenilpicrylhydrazil* (DPPH). Pengamatan terhadap penangkapan radikal *diphenilpicrylhydrazil* (DPPH)

dapat dilakukan dengan mengamati penurunan absorbansi.

Penelitian tentang biopigmen klorofil memang sudah banyak dilakukan dan diaplikasikan pada berbagai jenis bidang misalnya dalam bidang kesehatan untuk dijadikan suplemen. Selain itu kelemahan dari biopigmen itu sendiri tidak stabil pada suhu panas dan cahaya. Begitu pula dengan penelitian mengenai antioksidan sudah banyak dilakukan dari berbagai jenis sumber. Peneliti sebelumnya melakukan uji aktivitas antibakteri dan antioksidan ekstrak pigmen klorofil rumput laut *Caulerpa racemosa* (forsskal) L. Agardh dimana pigmen klorofil dapat berfungsi sebagai senyawa penangkal radikal bebas atau antioksidan dengan memiliki nilai IC_{50} (*Inhibitor Concentration 50*) sebesar 2350,3 ppm^[1]. Karena aktivitas antioksidan klorofil cukup baik maka dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas daya antioksidan dari mikroalga *Chlorella vulgaris* pada

fraksi aseton untuk mengetahui kemampuan biopigmen sebagai anti radikal bebas atau antioksidan.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain Spektrofotometer UV/Vis, kuvet, hemasitometer, neraca analitik, pH meter, botol kultur, botol vial, aerator, selang, batu aerator, kain satin, termometer, alat gelas, pengaduk magnet, corong pisah, kertas saring, batang pengaduk, pipa kapiler, plat KLT silika gel GF 254 dan lampu TL (*Tube Lamp*).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *Chlorella vulgaris*, media BBM (*Bassal Bold Medium*), aseton, n-heksana, metanol, NaOH, DPPH, asam askorbat, kertas tissue, kertas label, plastik bening, aluminium foil dan aquades.

Proses Kultivasi

Kultivasi *Chlorella vulgaris* dilakukan dalam media *Bassal Bold Medium* (BBM) dengan suhu yang digunakan selama proses kultivasi yaitu pada suhu ruang dan pemberian cahaya 2000-3000 lux dari lampu TL (*Tube Lamp*).

Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Pembuatan kurva pertumbuhan dilakukan dengan menghitung kerapatan optis dari mikroalga selama proses kultivasi berlangsung dan dilakukan setiap hari dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data yang didapat setiap hari selama proses kultivasi akan dibuat kurva yang disebut kurva pertumbuhan.

Pemanenan dan Pengeringan

Pemanenan *Chlorella vulgaris* dilakukan saat kepadatan sel sudah cukup tinggi (rapat optis kultur > 1) yaitu pada hari ke-7 dan ke-8.

Pemanenan dilakukan dengan cara flokulasi yaitu pengendapan dengan penambahan NaOH dan didiamkan selama satu malam. Setelah satu malam dilakukan proses penyaringan biomassa menggunakan kain satin. Setelah semua kultur selesai disaring, endapan kultur kemudian dibilas dengan menggunakan aquades hingga didapat pH yang netral. Selain itu tujuan dari pembilasan dengan aquades yaitu untuk menghilangkan pengotor dan residu kimia. Untuk proses pengeringan dilakukan dalam ruangan dengan suhu ruang. Hasil dari pemanenan dikain satin dipindahkan ke atas plastik agar pada saat biomassa sudah kering tidak banyak biomassa kering yang menempel pada kain. Pengeringan biomassa hanya dengan bantuan hembusan angin. Proses pengeringan berlangsung selama 2-3 hari.

Ekstraksi Biopigmen

Untuk melakukan ekstraksi biopigmen digunakan aseton sebagai pelarut. Sebanyak 0,5 gram sampel kering dilarutkan dengan 100 mL aseton dan diaduk selama satu malam. Ekstrak disaring dengan kertas saring, residu diekstraksi kembali dengan pelarut yang sama sampai seluruh pigmen terangkat yang ditandai dengan warna thallus yang memucat/pudar. Selanjutnya filtrat dipartisi dengan n-heksana kemudian ditambahkan garam dapur untuk memperjelas pemisahan antara pelarut dan ekstrak. Selanjutnya filtrat digunakan untuk KLT, penentuan jenis biopigmen dengan spektrofotometer UV/Vis dan uji aktivitas daya antioksidan dengan metode DPPH.

Kromatografi Lapis Tipis

Filtrat yang didapat dari hasil ekstraksi kemudian dipekatkan dengan menggunakan *waterbath* hingga volumenya berkurang. Selanjutnya ditotolkan menggunakan pipa kapiler di

atas plat KLT silika gel GF 254 dengan eluen aseton:heksana (4:6). Proses dihentikan ketika eluen sudah tidak bergerak lagi melalui plat silika gel.

Karakterisasi fraksi Aseton untuk Pembacaan Pola Spektra

Pembacaan pola spektra pada fraksi aseton dilakukan pada panjang gelombang 300-800 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pembacaan pola spektra ini dilakukan untuk menentukan jenis biopigmen utama yang terdapat pada fraksi aseton dengan membandingkan hasil pola spektra fraksi aseton dengan pola spektra dari literatur. Selain itu, juga ditentukan dari panjang gelombang maksimum yang diperoleh pada pola spektra.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui potensi fraksi aseton dari mikroalga *Chlorella*

vulgaris sebagai antioksidan. Parameter yang digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan adalah IC_{50} (*Inhibition Concentration* 50). Semakin kecil konsentrasi IC_{50} , maka semakin besar aktivitas antioksidannya. Aktivitas antioksidan dari fraksi aseton diuji dengan menggunakan metode DPPH (*diphenilpicrylhydrazil*).

Sebanyak 0,08 gram ekstrak biopigmen diencerkan dengan metanol pada labu ukur 10 mL. Dibuat larutan untuk kurva standar dengan menimbang 0,01 gram kristal DPPH yang diencerkan dengan metanol pada labu ukur 10 mL sehingga kadarnya 1000 ppm. Kemudian dibuat variasi konsentrasi dari larutan stok sebesar 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm. Dibuat pula larutan pembanding dengan menggunakan standar vitamin C dengan variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25 ppm. Pembuatan larutan DPPH dilakukan dengan menimbang 0,004 gram kristal DPPH dalam labu ukur 100

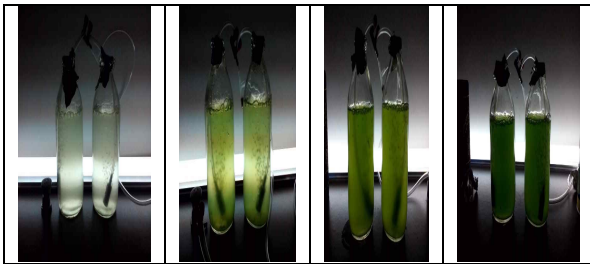
mL hingga kadarnya 0,004% (b/v). Setelah pembuatan larutan DPPH, 3 mL sampel dengan berbagai variasi konsentrasi ditambahkan dengan 3 mL larutan DPPH 0,004% kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang. Dimasukkan dalam kuvet dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 571 nm.

Hasil Dan Pembahasan

Kultivasi *Chlorella vulgaris*

Pada kultivasi *Chlorella vulgaris* perlu dilakukan aktivasi inokulum agar *Chlorella vulgaris* dapat beradaptasi dengan medium yang baru yaitu *Bassal Bold Medium* (BBM) karena pada sebelumnya *Chlorella vulgaris* dikultivasi pada medium NPK. Proses aktivasi dilakukan selama 3-4 hari dengan penyinaran 24 jam serta pemasangan aerator. Setelah dilakukan proses aktivasi selama 3-4 hari, *Chlorella vulgaris* dapat dikultur

dengan medium yang baru yaitu *Bassal Bold Medium* (BBM). Selain itu, proses aktivasi dilakukan agar inokulum *Chlorella vulgaris* yang akan dikultivasi berada dalam keadaan optimum untuk tumbuh. Kondisi optimum umumnya dicapai ketika berada pada fase pertumbuhan (logaritmik), dimana *Chlorella* berada dalam tingkat pertumbuhan maksimal. Penampakan warna pada kultur akan berubah menjadi kekuningan ketika kultur mengalami fase kematian. Proses kultur *Chlorella vulgaris* disajikan pada Gambar 1.

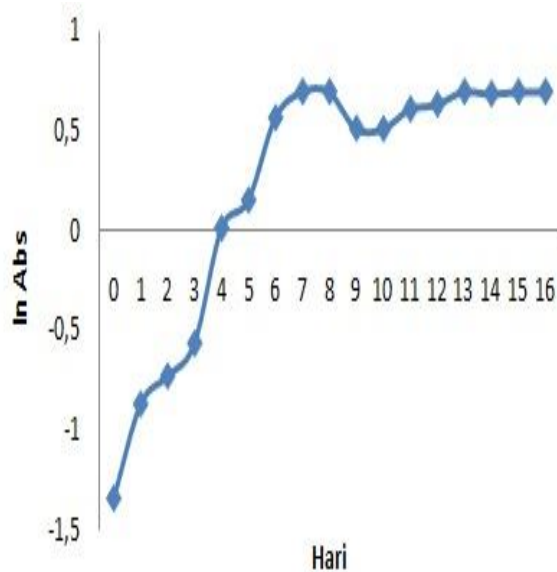


Gambar 1. Proses kultivasi mikroalga

Chlorella vulgaris

Kurva Pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Pertumbuhan sel kultur pada media cair dapat dilakukan dengan mengukur nilai OD (*optical density*)^[14]. Pengukuran biomassa pertumbuhan mikroalga *Chlorella vulgaris* dilakukan pada OD₆₈₀. Pengukuran OD ini dilakukan setiap hari pada waktu yang sama dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Tujuan pengukuran OD adalah untuk mengetahui kepadatan sel yang akan dipanen. Nilai absorbansi pengukuran OD untuk mikroalga yang sudah siap dipanen sebesar >1. Nilai absorbansi yang didapat dari pengukuran rapat optis diturunkan dengan pendekatan logaritma normal (ln) lalu diplotkan ke dalam suatu grafik sehingga akan didapat kurva pertumbuhan^[14]. Kurva pertumbuhan *Chlorella vulgaris* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Chlorella vulgaris*

Berdasarkan kurva pertumbuhan tersebut dapat diketahui bahwa pada fase awal (lag) pertumbuhan terdapat penambahan jumlah sel yang sedikit yaitu pada hari pertama hingga hari ketiga. Setelah mengalami fase lag, alga akan mengalami pertumbuhan secara cepat atau yang disebut dengan fase pertumbuhan eksponensial. Hal ini ditandai dengan penambahan jumlah sel yang sangat cepat melalui pembelahan sel alga. Fase pertumbuhan

eksponensial berlangsung dari hari ke empat hingga hari ke enam masa kultur.

Fase stasioner adalah fase pertumbuhan ketika kelimpahan sel mengalami pertumbuhan konstan akibat keseimbangan katabolisme dan metabolisme sel. Fase stasioner berlangsung pada hari ke enam hingga hari ke sembilan.

Fase kematian sel terjadi karena perubahan kualitas air yang semakin memburuk, penurunan nutrisi dalam media kultur dan kemampuan sel yang sudah tua untuk melakukan metabolisme. Fase kematian berlangsung pada hari ke sepuluh masa kultur^[15].

Pemanenan dan Pengeringan

Proses pemanenan dilakukan pada fase stasioner tercapai karena pada fase ini terjadi pertumbuhan sel yang konstan sehingga kelimpahan sel sedang tinggi. Pemanenan dilakukan dengan cara flokulasi yaitu pengendapan

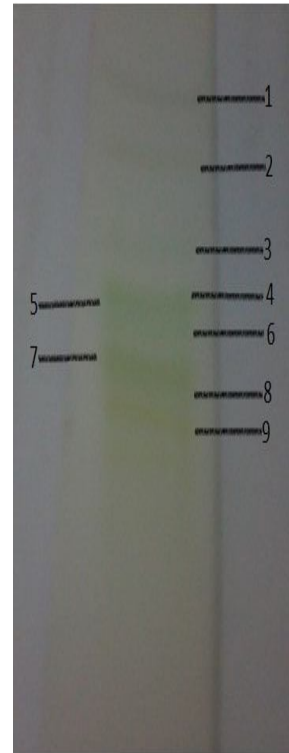
dengan penambahan NaOH dan didiamkan semalam. Kemudian disaring dan dicuci dengan aquades untuk menetralkan dan menghilangkan residu kimia.

Proses pengeringan perlu diperhatikan karena akan berpengaruh pada kualitas biomassa. Pengeringan dilakukan dengan menyimpan biomassa basah di atas plastik kemudian dianginkan dengan suhu ruang.

Analisis Biopigmen pada Fraksi Aseton

Analisis biopigmen dari mikroalga *Chlorella vulgaris* pada fraksi aseton dilakukan secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan secara kuantitatif dengan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil komposisi pigmen menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) berupa pola pemisahan pigmen yang disajikan pada Gambar 3.

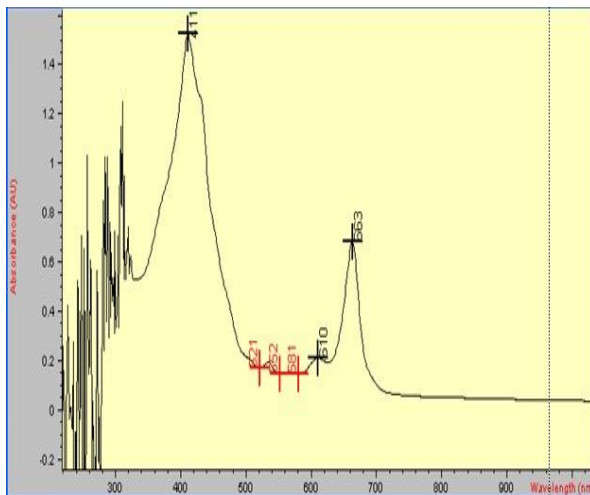


Gambar 3. Pola Pemisahan Fraksi aseton dari *Chlorella vulgaris* dengan KLT

Dari pola pemisahan pigmen tersebut terdapat 9 spot, yaitu 6 spot yang diidentifikasi senyawa klorofil (4, 5, 6, 7, 8, dan 9) dan 3 spot yang diidentifikasi senyawa karotenoid (1, 2, dan 3). Pada spot 4, 5, 6, 7, 8, dan 9 menghasilkan nilai Rf antara 0,49-0,63 dimana pada rentang tersebut merupakan kisaran nilai Rf untuk senyawa klorofil. Untuk klorofil a

berada pada rentang nilai Rf sebesar 0,57-0,64 sedangkan untuk klorofil b diantara rentang nilai Rf sebesar 0,42-0,56^[18].

Hal ini didukung dengan hasil pembacaan pola spektra dari fraksi aseton pada panjang gelombang 300-800 nm yang memberikan 2 puncak yaitu pada panjang gelombang 411 nm dan panjang gelombang 663 nm.

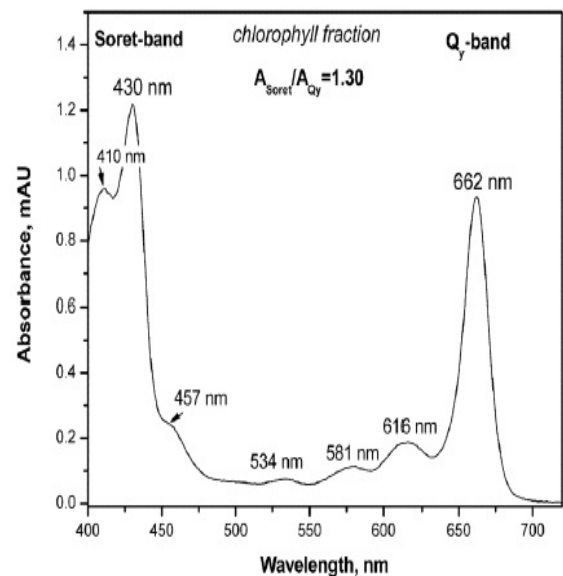


Gambar 4. Pola spektra fraksi aseton

Hasil ini tidak berbeda jauh dengan literatur yaitu pada panjang gelombang 430 nm dan 662 nm.

Berdasarkan hasil dari kromatografi lapis tipis (KLT) dan

identifikasi pola spektra dari fraksi aseton serta dibandingkan dengan Rf klorofil dan pola spektra pada literatur yang memiliki kesamaan, dapat diambil kesimpulan bahwa pada fraksi aseton terdapat klorofil sebagai biopigmen utama. Pola spektra klorofil sebagai standar atau pembanding disajikan pada Gambar 5.



Gambar 5. Pola spektra Klorofil

Kurva Kalibrasi DPPH

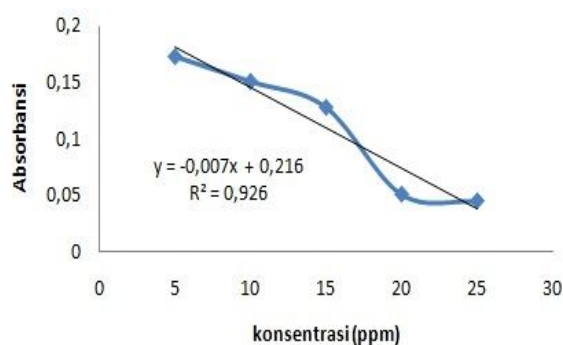
Kalibrasi merupakan kegiatan untuk menentukan kebenaran konvensional nilai penunjukkan alat ukur dan bahan

ukur dengan membandingkan terhadap standar ukur. Pembuatan kurva standar DPPH dilakukan dengan membuat variasi standar yaitu 5, 10, 15, 20 dan 25 ppm dari serbuk DPPH. Hasil pengukuran ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil absorbansi DPPH
diberbagai konsentrasi

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
5	0,173
10	0,151
15	0,128
20	0,051
25	0,045

Dari data absorbansi tersebut dapat dibuat grafik hubungan konsentrasi terhadap absorbansi. Grafik kurva kalibrasi DPPH disajikan pada Gambar 6.



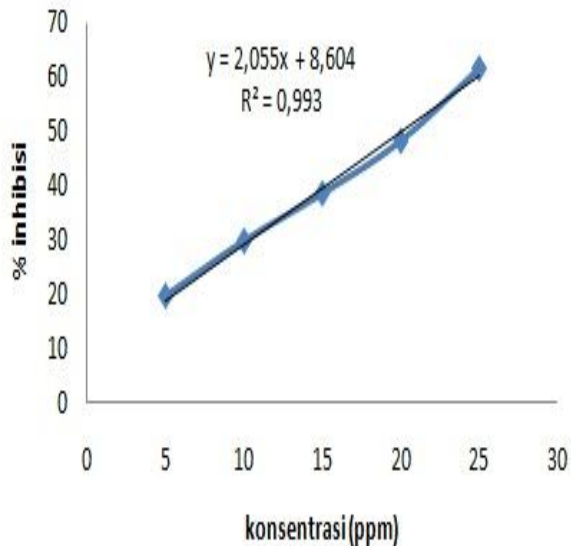
Gambar 6. Grafik kurva kalibrasi larutan DPPH.

Dari grafik tersebut terdapat hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi sehingga diperoleh kurva kalibrasi standar DPPH dengan persamaan garis $y = -0,007x + 0,216$ dengan nilai koefisien korelasi sebesar 0,926.

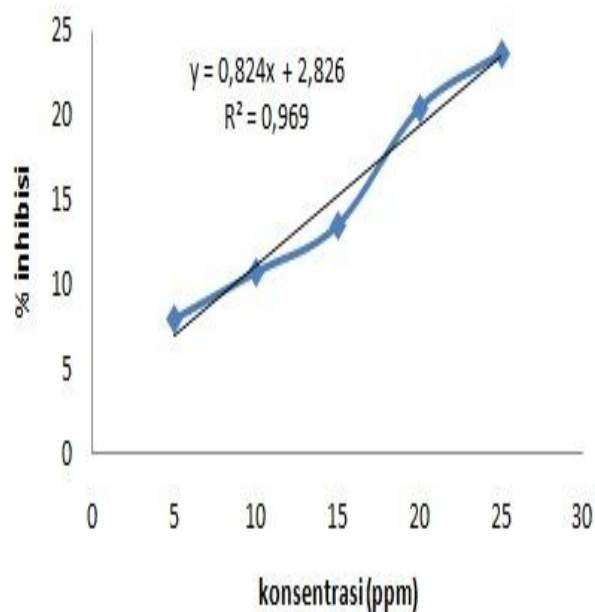
Uji Aktivitas Daya Antioksidan pada Fraksi Aseton

Pengujian aktivitas antioksidan fraksi aseton diukur dengan menggunakan DPPH. Aktivitas antioksidan pada penelitian ini dihitung berdasarkan konsentrasi penghambatan radikal bebas 50% (IC_{50}) dan dibandingkan dengan vitamin C. Nilai IC_{50} dari fraksi aseton sebesar 57,25 ppm lebih tinggi dari pembanding yaitu vitamin C sebesar 20,14 ppm. Nilai IC_{50} didapat dari persamaan garis dengan memplotkan % inhibisi sebagai sumbu y dan konsentrasi sebagai sumbu x. Sehingga didapat kurva vitamin C dan

fraksi aseton pada Gambar 7 dan 8 secara berturut-turut.



Gambar 7. Grafik hubungan konsentrasi vitamin C dengan % inhibisi



Gambar 8. Grafik hubungan konsentrasi fraksi aseton dengan % inhibisi

Aktivitas antioksidan pada klorofil dapat disebabkan oleh beberapa hal. Klorofil mampu menangkap oksigen singlet dan melakukan resonansi maupun vibrasi untuk membuang energi yang berlebihan ke lingkungan [23]. Mekanisme ini didukung oleh struktur utama klorofil, yaitu tetrapireol yang merupakan struktur π -ena terkonjugasi. Struktur ini menyebabkan energi menjadi stabil, terutama melalui resonansi dalam struktur orbital π yang overlap [24]. Klorofil juga dimungkinkan mampu menangkap radikal bebas karena klorofil termasuk senyawa yang lipofilik [25].

Kesimpulan

Hasil identifikasi jumlah biopigmen pada fraksi aseton hasil ekstraksi mikroalga *Chlorella vulgaris*

sebanyak 9 spot dan jenis biopigmen yang terdapat fraksi aseton adalah klorofil a. Aktivitas daya antioksidan dari mikroalga *Chlorella vulgaris* pada fraksi aseton dengan nilai IC_{50} 57,25 ppm dapat berfungsi sebagai penangkal radikal bebas dan bila dibandingkan dengan Vitamin C dengan nilai IC_{50} 20,14 ppm sebagai kontrol positif, aktivitas daya antioksidan fraksi aseton dapat dikatakan kuat sebagai penangkal radikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Dimara,Lisiard;B.Yenusi,Tien Nova."Uji Akrivitas Antibakteri dan Antioksidan Eksttrak Pigmen Klorofil Rumput Laut *Caulera racemosa* (Forsskal) J.Agard".Jurnal Biologi Papua.2011,3(2):53-58
- [2] Richmond, A.(2004)."Biological Principles of Mass Cultivation". In: Richmond, A. Handbook of Microalgae Culture Biotechnology and Applied Phycology.125-217.Britain: Blackwell
- [3] Soematmaji,D.W.1998."Peran Stress Oksidatif dalam Patogenesis Angiopati Mikro dan Makro DM". Dalam Medica.5(24):318:325
- [4] Leong dan Shui G.2002."An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets", Food Chemistry.76:69-75
- [5] Supari F.1996."Radikal Bebas dan Patologi beberapa Penyakit di dalam Senyawa Radikal dan Sistem Pangan Reaksi Biomolekuler, dampak terhadap Kesehatan dan Penangkalan". Prodising Seminar Pusat Studi Pangan dan Gizi IPB dan Kedutaan Besar Perancis.Jakarta.Bogor
- [6] Hernani dan Rahardjo, Mono.2005."Tanaman Berkhasiat Antioksidan".Penebar Swadaya.Depok

- [7] Molyneux, P. 2004. "The Use of The Stable Free Radical *diphenilpycrilhydrazine* (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity". Songklonakarinn J. Sci, Techno. 26(2):211-219
- [8] Sanja M. Milenkovic, Jelena B. Zvezdanovic, Tatjana D. Anelkovic, Dejan Z. Markovic. 2012. "The Identification of Chlorophyll and its Derivates in The Pigment Mixtures: HPLC-Chromatography, Visible and Mass Spectroscopy Studies". Advanced Technologies 1(1)(2012);16-24
- [9] Suriawiria, Unus. 2005. "Chlorella untuk Kesehatan dan Kebugaran". Jakarta: Papyrus Sinar Sinanti
- [10] Wirosaputro, Sukirman. 2002. "Chlorella untuk Kesehatan Global". Gajah Mada University Press
- [11] Day, R. A. and A. L. Underwood. (2002). "Analisis Kimia Kuantitatif". Edisi Keenam. Jakarta. Penerbit Erlangga
- [12] Etty Triyati. 1985. "Spektrofotometer Ultra-violet dan Sinar Tampak serta Aplikasinya dalam Oseanologi". Oseana, Volume X, nomor 1:39-47
- [13] Khopkar, S. M. 1990. "Konsep Dasar Kimia Analitik". Jakarta: UI-Press.
- [14] Pamungkas E. 2005. "Pengolahan Limbah Cair PT. Pupuk Kujang dengan *Spirulina sp.* pada Reaktor curah (*batch*)". [skripsi] Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perairan. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. IPB
- [15] Ayustama, Anditha; Artjha, Eka. 2010. "Proses Produksi Mikroalga dalam Photobioreaktor Moni Pond secara Batch untuk

- Bahan-bahan Biodisel".Semarang.Fakultas Teknik:Universitas Diponegoro
- [16] Desrosier NW.1988."Teknologi Pengawetan Pangan".Edisi Ketiga.Muldjoharjo M, penerjemah.Jakarta:UI-Press
- [17] Indelicato, S.R, dan D.A. Watson.1986."Identification of the Photosynthetic Pigments of the Tropical Benthic Dinoflagellate *Gambierdiscus toxicus*".Marine Fisheries Review.,48(4):44-47
- [18] Pramesti, Rini. 2013."Aktivitas Antioksidan Ekstrak Rumput Laut *Caulerpa serrulata* dengan Metode DPPH".Buletin Oseanografi Marina April 2012.vol 2;7-15
- [19] Arylza IS.2005."Isolasi Pigmen Biru Fikosianin dari Mikroalga *Spirulina platensis*".Jurnal Oseanologi dan Limnologi di Indonesia.38:79-92
- [20] Doke JM.2005."An Improved and Efficient Method for the extraction of Phycocyanin from *Spirulina sp.*".Journal of Food Engineering.vol1.Issue 5.Article 2.
- [21] Haryoto dkk.2007."Aktivitas Antioksidan Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari *Shorea acuminatissima* dengan Metode DPPH".Jurnal Ilmu Dasar.Vol 8 No 2:158-164
- [22] Hartiwi Etti dan Trihandaru Suryasatriya.2009."Pengukuran Spektrum Klorofil Daun Suji Menggunakan Spektrofotometer Sederhana".Prosiding Seminar Nasional Sains dan Pendidikan Sains IV, No.3:992-631
- [23] Yanishlieva.N.V.2003."Inhibiting Antioxidant In : Pokorny J.N Yanishlieva dan M.Gordon(Eds) Antioxidant in Food".Woodhead Publishing Limited, North America PP 22-27

- [24] Lee, M, Lee, S. K. Park dan E. Choe. 2002. "Spinach (*Spinacea olecea*) Powder as a Natural Food Grade Antioxidant in Deep Fat Dried Products". *J. Agriculture and Food Chemistry* 50:5664-5669
- [25] Burrati, SN Pellegrini, O.V Brenna dan S. Mannino. 2001. "Rapid Electrochemical Method for the Evaluation of the antioxidant Power of some Lipophilic Food Extract". *J. Agriculture and Food Chemistry*, 49, 5136-5141