



## Deteksi Golongan Senyawa Ekstrak Kasar Metabolit Ekstrasel Mikroalga Laut *Spirulina* sp. Sebagai Agen Antioksidan

Received 7th February 2021

Accepted 30th March 2021

Published 27th May 2021

Open Access

Yulistia Anggraini<sup>a</sup> dan Diah Astika Winahyu<sup>b</sup>

DOI: 10.35472/jsat.v5i1.415

<sup>a</sup> Program Studi Kimia, Jurusan Sains, Institut Teknologi Sumatera, Lampung Selatan, Indonesia<sup>b</sup> Program Studi D3 Analisis Farmasi dan Makanan, Fakultas Kedokteran, Universitas Malahayati, Bandar Lampung, Indonesia\* Corresponding E-mail: [yulistia.anggraini@ki.itera.ac.id](mailto:yulistia.anggraini@ki.itera.ac.id)

**Abstract:** Microalgae excrete antioxidant compounds as a defense system to protect themselves from the danger of ultraviolet rays. These compounds also can be used as the organic materials of cosmetics or medicines. This study aimed to determine the antioxidant activity of marine microalgal extracellular metabolite extract of *Spirulina* sp.. Extracellular metabolites were extracted from the residual media filtrate from the harvesting. The qualitative antioxidant test's results using the thin-layer chromatography technique and 2,2-diphenylpicrylhydrazil (DPPH) reagent showed antioxidant activity. Moreover, the component identification using ninhydrin and Dragendorff reagent in thin layer chromatography test showed alkaloid and peptide compounds. To support the results, the identification using infrared spectrum analysis showed the peaks at 1117  $\text{cm}^{-1}$  (C-N and C-C stretching), 1458  $\text{cm}^{-1}$  (C-H bending of methyl group), 1635  $\text{cm}^{-1}$  (C=O stretching of amide group), and 3454  $\text{cm}^{-1}$  (N-H stretching of amine and amide groups).

**Keywords:** microalgae, *Spirulina* sp., antioxidant, extracellular metabolite, DPPH

**Abstrak:** Mikroalga melepaskan senyawa antioksidan sebagai sistem pertahanan diri terhadap sinar ultraviolet. Senyawa ini juga dapat digunakan sebagai bahan kosmetik dan obat-obatan. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antioksidan serta golongan senyawa yang terkandung pada ekstrak metabolit ekstrasel mikroalga laut *Spirulina* sp.. Ekstrak metabolit ekstrasel diperoleh dari residu filtrat media hasil pemanenan. Hasil uji kualitatif antioksidan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis dan pereaksi 2,2- diphenylpicrylhydrazil (DPPH) menunjukkan bahwa ekstrak kasar tersebut memiliki aktivitas antioksidan. Identifikasi komponen menggunakan pereaksi Dragendorff dan ninhidrin pada uji kromatografi lapis tipis menunjukkan adanya senyawa alkaloid dan peptida. Hasil identifikasi tersebut didukung oleh analisis spektrum infra merah yang menunjukkan adanya puncak pada daerah 1117  $\text{cm}^{-1}$  (uluran C-N dan C-C), daerah 1458  $\text{cm}^{-1}$  (tekukan C-H gugus metil), daerah 1635  $\text{cm}^{-1}$  (uluran C=O khas gugus amida atau karboksilat), dan daerah 3454  $\text{cm}^{-1}$  (uluran N-H dari gugus amina dan amida).

**Kata Kunci :** mikroalga, *Spirulina* sp., antioksidan, metabolit ekstrasel, DPPH

### Pendahuluan

Sistem antioksidan secara alami diproduksi oleh tubuh manusia untuk menangkal radikal bebas. Namun, jumlah radikal bebas dalam tubuh akan semakin meningkat karena pengaruh dari lingkungan (udara yang tercemar), gaya hidup tidak sehat, stres, dan paparan sinar ultra violet [1-3]. Hal tersebut menyebabkan berkurangnya kemampuan antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Radikal bebas yang berlebih menyebabkan stres oksidatif. Stres oksidatif dapat menyebabkan kerusakan penyakit degeneratif [1]. Oleh karena itu, tubuh

memerlukan asupan antioksidan dari luar, baik antioksidan alami maupun antioksidan sintetik.

Antioksidan alami banyak dihasilkan dari berbagai jenis tanaman. Berbagai jenis buah-buahan, sayuran, dan tanaman herbal yang dapat dikonsumsi telah diketahui memiliki banyak kandungan antioksidan [4-7]. Akan tetapi, saat ini penemuan senyawa antioksidan baru dari organisme terestrial cenderung menurun karena adanya batasan eksplorasi bahan dari tanaman terestrial. Oleh karena itu diperlukan sumber baru untuk mendapatkan senyawa antioksidan alami yang sifatnya dapat terus diperbaharui.



Salah satu kandidat potensial sumber antioksidan adalah mikroalga laut [8].

Mikroalga merupakan mikroorganisme yang memiliki potensi sebagai sumber senyawa metabolit bioaktif. Berbagai senyawa seperti flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan peptida telah berhasil diisolasi dari mikroalga. Senyawa-senyawa tersebut memiliki ragam bioaktivitas antara lain sebagai antibakteri, antiinflamasi, antikanker, dan sebagainya [8-11]. Bioaktivitas senyawa metabolit mikroalga sebagai antioksidan juga telah banyak diteliti. Mikroalga berpotensi sebagai sumber antioksidan alami karena kaya kandungan vitamin, karotenoid, dan polifenol [12-14]. Umumnya senyawa-senyawa tersebut diisolasi dari biomassa, sementara informasi mengenai senyawa antioksidan mikroalga yang diekstraksi masih terbatas [15].

Antioksidan memegang peranan penting dalam sistem pertahanan diri *Spirulina* sp.. Sebagai mikroorganisme fotoautotrof, *Spirulina* sp. dapat menyaring sinar ultra violet dengan cara melepaskan suatu senyawa metabolit sekunder ke lingkungannya untuk mencegah terjadinya kerusakan sel akibat reaksi radikal yang disebabkan sinar ultra violet [16]. Senyawa yang dapat menangkal radiasi sinar ultraviolet umumnya merupakan senyawa yang memiliki potensi antioksidan tinggi.

Saat ini penelitian tentang senyawa antioksidan dari bahan alam masih terus dikembangkan [17]. Antioksidan digunakan secara luas di bidang industri makanan, kosmetik, maupun kesehatan. Selain itu, sebagian besar orang beranggapan bahwa peran antioksidan alami tidak dapat digantikan oleh antioksidan sintetik mengingat risiko yang mungkin dapat ditimbulkan oleh antioksidan sintetik [17-19]. Oleh karenanya, penelitian ini menjadi langkah awal yang penting untuk mendapatkan informasi mengenai potensi sumber penghasil senyawa antioksidan yang diekstraksi oleh *Spirulina* sp.

## Metode

**Material.** Isolat *Spirulina* sp. yang digunakan diperoleh dari Balai Besar Perikanan Budidaya Laut (BBPBL) Lampung. Limbah POME (Palm Oil Mill Effluent) yang digunakan sebagai nutrisi tambahan media kultur diperoleh dari limbah PT. Perkebunan Nusantara VII Unit Bekri, Lampung Tengah. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain etanol *absolute* (Merck), isopropanol *p.a.* (Merck), asam klorida pekat 32 % (Merck), resin Amberlit XAD-16 (Sigma), asetonitril *p.a.* (Merck), 2,2-diphenylpicrylhydrazil (DPPH) (Sigma

Aldrich), *trifluoroacetic acid for synthesis* (TFA) (Merck), Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> teknis, pupuk (urea, TA, TSP), plat silika gel 60 F254 (Merck), Plat kaca RP-18 F254 (Merck), pereaksi Dragendorff dan pereaksi ninhidrin.

**Kultivasi dan Pemanenan.** Metode kultivasi *Spirulina* sp mengikuti metode Sari dkk. [20] dengan modifikasi menggunakan air laut dan limbah POME 5% sebagai nutrisi tambahan alternatif. Kultivasi dilakukan dalam skala lebih besar (80 L) menggunakan sistem terbuka dengan pencahayaan menggunakan sinar matahari. Setelah dikultivasi selama dua minggu, Filtrat dan biomassa dipisahkan menggunakan *membran filter* 200 mesh [21].

**Ekstraksi.** Sebanyak 5 L filtrat hasil panen dilewatkan pada kolom yang berisi resin XAD-16. Resin yang sudah menyerap ekstrak metabolit ekstrak tersebut dililas dengan etanol 30% kemudian dilanjutkan dengan elusi secara gradien menggunakan pelarut isopropanol (IPA) 20%, 40%, dan 70%, pada kondisi asam (dengan menambahkan beberapa tetes asam klorida sampai pH 2) [22]. Ekstrak yang terkumpul kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*.

**Uji Antioksidan.** Uji antioksidan dilakukan secara kualitatif menggunakan teknik kromatografi lapis tipis (KLT) [23]. Ekstrak pekat ditotolkan pada plat silika lalu dielusi dengan isopropanol-air 20%. Hasil elusi kemudian disemprot dengan pereaksi DPPH 0,01 M dan didiamkan selama 30 menit. Fraksi yang menunjukkan positif antioksidan kemudian dihitung nilai Rf nya.

$$R_f = \frac{\text{Jarak migrasi senyawa}}{\text{Jarak migrasi eluen}}$$

**Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT).** Uji ini dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa antioksidan yang terkandung dalam ekstrak sampel. Ekstrak kasar diuji secara KLT menggunakan pereaksi visualisasi Dragendorff, ninhidrin, dan serum sulfat. Sampel ditotolkan pada plat RP-18 dan dielusi menggunakan campuran asetonitril-air (7:3) + 1 tetes TFA 0,1%.

**Analisis spektroskopi Infa Merah.** Sekitar 1 mg sampel uji digerus dengan garam KBr kemudian dibuat pelet menggunakan *die* 7 mm. Pelet kemudian diukur serapannya menggunakan spektrofotometer *Fourier Transform Infra Red* (FTIR) Shimadzu Prestige-21 di daerah 4000-400 cm<sup>-1</sup>.

## Hasil dan Pembahasan

### Kultivasi dan Pemanenan

Kajian mengenai pemanfaatan limbah POME sebagai media kultivasi *Spirulina* sp. telah banyak dilakukan, terutama karena banyaknya industri sawit di Indonesia [20,24]. POME mengandung unsur N, P, dan K yang dapat dimanfaatkan sebagai media pertumbuhan mikroalga. Penggunaan limbah POME sebagai media kultivasi *Spirulina* sp. dapat mengurangi emisi karbon dioksida dan mereduksi residu organik limbah pabrik sawit yang dapat mencemari lingkungan.

Kajian mengenai pengaruh konsentrasi POME terhadap pertumbuhan mikroalga telah dilakukan oleh Sari dkk. dan Hadiyanto dkk. [20,24]. Kultivasi dilakukan selama dua minggu karena sistem pencahayaan yang digunakan adalah sinar matahari langsung, di mana durasi pencahayaan menjadi kurang dari 24 jam. Akibatnya, pertumbuhan *Spirulina* sp. dengan pencahayaan matahari lebih lambat dibandingkan dengan pertumbuhan *Spirulina* sp. dengan pencahayaan 24 jam. Pemanenan kultur mikroalga dengan pencahayaan matahari memerlukan waktu 10-14 hari, sedangkan pemanenan kultur mikroalga dengan pencahayaan 24 jam hanya membutuhkan waktu 7-10 hari [20]. Kultivasi *Spirulina* sp. pada media POME 5% menghasilkan biomassa basah sebanyak 0,98 g/L media kultur.

Identifikasi *Spirulina* sp. hasil kultivasi diamati secara mikroskopis menggunakan mikroskop cahaya (perbesaran 400 kali) seperti terlihat pada **Gambar 1**. Isolat memiliki diameter 8,8  $\mu\text{m}$ . Ukuran tersebut cukup besar dan normal seperti ukuran *Spirulina* sp. pada umumnya (diameter 1-12  $\mu\text{m}$ ). Karena diameter *Spirulina* sp cukup besar, biomassa dr isolat *Spirulina* sp. dapat dipisahkan dengan metode penyaringan menggunakan *membran filter* 200 mesh [21]. Setelah biomassa disaring, filtrat hasil penyaringan kultur selanjutnya digunakan untuk proses ekstraksi senyawa antioksidan dari metabolit ekstrasel.



**Gambar1.** *Spirulina* sp. Pada media POME 5% (pengamatan menggunakan mikroskop cahaya perbesaran 400x)

### Ekstraksi

Ekstraksi filtrat kultur *Spirulina* sp. dilakukan dengan menggunakan resin XAD-16. Resin XAD-16 digunakan untuk menargetkan senyawa polar dengan berat molekul rendah dan sedang, seperti senyawa metabolit sekunder kelompok peptida atau polifenol [22,25]. Resin XAD-16 adalah adsorben poliaromatik (momen dipol 0,3) dengan diameter pori rata-rata 100  $\text{Å}$  yang memungkinkan resin untuk mengadsorpsi molekul dengan berat molekul kecil hingga sedang (kurang dari 40.000). Resin ini biasanya digunakan untuk mengadsorpsi senyawa organik dalam pelarut polar atau sistem berair. Ekstrak yang terjerap dalam resin dielusi secara gradien menggunakan pelarut isopropanol-air, 20 %, 40%, dan 70% (pada pH 2, dengan menambahkan beberapa tetes asam klorida dalam eluen). Senyawa dalam filtrat media memiliki sifat asam lemah, sehingga dalam filtrat media akan muncul sebagai garam yang sukar larut dalam pelarut organik. Kondisi asam diperlukan agar senyawa mudah terekstrak dengan pelarut organik, sehingga pada penelitian ini menggunakan pH 2 seperti yang dilakukan Oleh Martin-Visscher *et.al.* [22]. Pemisahan secara gradien tersebut menghasilkan 6 fraksi isolat, yaitu fraksi EY1 dan EY2 (hasil elusi IPA 20%), fraksi EY3 dan EY4 (hasil elusi IPA 40%), fraksi EY5 dan EY6 (hasil elusi IPA 70%). Tiap fraksi yang diperoleh kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak pekat yang diperoleh kemudian digunakan untuk pengujian lebih lanjut.

### Uji Antioksidan

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) cukup efektif untuk mendeteksi sifat antioksidan suatu senyawa secara kualitatif [23]. Senyawa yang positif mengandung antioksidan akan menghasilkan bercak berwarna kuning dengan latar belakang berwarna ungu seperti terlihat pada **Gambar 2**.



Keterangan Gambar:

- 1 : fraksi EY 1
- 2 : fraksi EY 2
- 3 : fraksi EY 3
- 4 : fraksi EY 4
- 5 : fraksi EY 5
- 6 : fraksi EY 6

**Gambar 2.** Uji kualitatif antioksidan fraksi EY1-6 dengan teknik KLT, fasa diam plat silika, eluen IPA-air (1:4), pereaksi DPPH 0,01M.

Dari gambar tersebut terlihat bahwa fraksi EY6 memiliki kandungan antioksidan. Hasil KLT tersebut juga menunjukkan bahwa ekstrak yang mengandung antioksidan

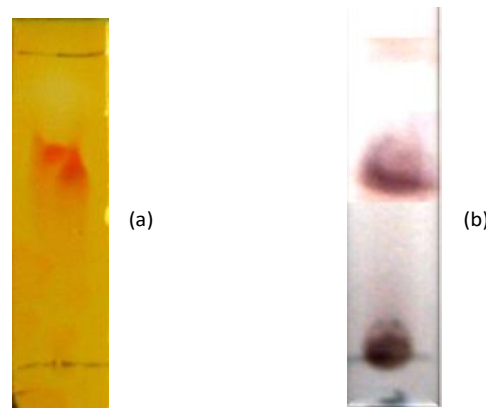
adalah senyawa yang sangat polar karena bercak berada di bawah ( $R_f$  0 dan 0,1). Untuk mempermudah proses pemisahan, maka uji kromatografi selanjutnya dilakukan menggunakan fasa diam non polar, yaitu plat RP-18.

### Uji Kromatografi Lapis Tipis

Fraksi EY6 diuji secara KLT menggunakan pereaksi spesifik untuk mengetahui komponen yang terkandung dalam ekstrak. Uji KLT dilakukan menggunakan plat RP-18 dan eluen asetonitril-air (7:3) yang ditambahkan 1 tetes TFA 0,1%. Pereaksi yang digunakan adalah pereaksi Dragendorff, ninhidrin, dan serum sulfat sebagai pereaksi visualisasi. Uji ini dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa apa saja yang terkandung dalam metabolit ekstrakel *Spirulina* sp..

Sebelum direaksikan dengan pereaksi visualisasi, hasil elusi EY6 terlebih dahulu divisualisasikan pada lampu UV 254 dan 366 nm. Hal ini bertujuan untuk melihat kemungkinan adanya senyawa aromatik, polifenol, atau flavonoid di dalam ekstrak EY6. Spot senyawa yang mengandung gugus aromatik biasanya akan memberikan warna ungu pada  $\lambda$  254 nm, sedangkan senyawa flavonoid dan polifenol akan memberikan warna kuning terang pada  $\lambda$  366 nm. Namun, hasil pengamatan menunjukkan hasil negatif sehingga disimpulkan ekstrak EY6 tidak mengandung gugus aromatik, flavonoid maupun polifenol.

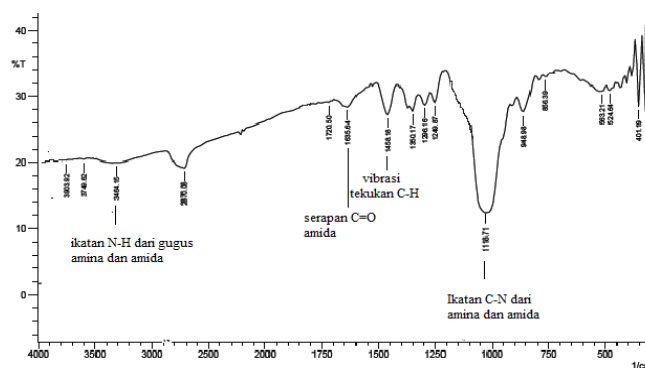
Selanjutnya hasil elusi KLT divisualisasi menggunakan pereaksi spesifik seperti pereaksi Dragendorff, ninhidrin, dan serum sulfat. Hasil uji menggunakan pereaksi Dragendorff menunjukkan bahwa komponen ekstrak positif mengandung senyawa alkaloid. Hal ini terlihat dari adanya spot berwarna jingga pada  $R_f$  0,69 seperti pada **Gambar 3a**. Komponen alkaloid yang mengandung gugus N-tercier akan memberikan reaksi positif dengan pereaksi Dragendorff menghasilkan noda berwarna jingga. Pereaksi ninhidrin digunakan untuk mengidentifikasi senyawa amina atau peptida yang memiliki gugus fungsi amina primer atau sekunder. Uji dengan ninhidrin menunjukkan hasil positif yang berarti ekstrak EY6 mengandung gugus amina primer atau sekunder. Kelompok senyawa ini memberikan bercak berwarna ungu seperti terlihat pada **Gambar 3b**.



**Gambar 3.** Uji fitokimia fraksi EY6, plat RP-18, eluen asetonitril-air (7:3) + 1 tetes TFA 0,1%. a) Pereaksi Dragendorff b) pereaksi ninhidrin.

Hasil uji KLT menggunakan pereaksi serum sulfat tidak menunjukkan penampakan bercak. Hal ini mungkin disebabkan oleh konsentrasi sampel yang kurang pekat atau ukuran molekul yang terkandung dalam sampel kecil sehingga tidak terdeteksi dengan pereaksi serum sulfat. Hasil uji KLT menggunakan pereaksi Dragendorff dan ninhidrin menunjukkan bahwa komponen di dalam ekstrak tersebut kemungkinan mengandung golongan senyawa alkaloid, amina, atau peptida. Data KLT tersebut didukung oleh data spektrum infra merah yang terlihat pada **Gambar 4**.

Data spektrum infra merah menunjukkan adanya serapan pada daerah  $1116,7 \text{ cm}^{-1}$  (uluran C-N dan C-C), daerah  $1458 \text{ cm}^{-1}$  (tekukan C-H gugus metil), daerah  $1635 \text{ cm}^{-1}$  (uluran C=O gugus amida), dan daerah  $3454 \text{ cm}^{-1}$  (uluran N-H dari gugus amina dan amida) [26].



**Gambar 4.** Spektrum FTIR fraksi EY6

Berdasarkan hasil uji KLT dan analisis spektroskopi infra merah, fraksi EY6 diduga memiliki kandungan peptida

seperti microcystin atau *mycosporine-like amino acids* (MAA). Namun, perlu diuji lebih lanjut dengan isolasi senyawa murni dan elusidasi struktur. Mikroalga kelompok cyanobacteria seperti *Oscillatoria* dan sp. *Microcystis* sp. umumnya menghasilkan microcystin dan MAA [27-30]. Senyawa microcystin dikenal sebagai senyawa yang bersifat toksin. Saat sel cyanobacteria mati, sel tersebut akan terurai dan melepaskan microcystin ke lingkungan. Dalam beberapa kasus, kejadian ini bahkan menyebabkan fenomena *cyanobacteria blooming* [31]. Sedangkan kelompok senyawa MAA biasanya dihasilkan oleh mikroorganisme laut fotoautotrof sebagai perlindungan terhadap sinar ultra violet atau lebih dikenal sebagai istilah fotoproteksi. Kemampuan MAA ini dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik dan kesehatan karena memiliki kemampuan menangkal radikal bebas atau bersifat antioksidan [27,29,30].

Penelitian ini memerlukan kajian lebih lanjut untuk mengetahui karakteristik dan struktur senyawa tersebut. Fraksi EY6 perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut serta elusidasi struktur dengan analisis spektroskopi, seperti spektroskopi massa dan spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*). Selain itu, Perlu dilakukan uji aktifitas antioksidan secara kuantitatif menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui seberapa besar kemampuan antioksidan dari senyawa metabolit ekstrasel tersebut.

## Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metabolit ekstrasel *Spirulina* sp. diduga mengandung golongan senyawa alkaloid atau peptida yang berpotensi sebagai antioksidan. Untuk mengetahui karakteristik dan struktur senyawa tersebut, Fraksi EY6 perlu dilakukan pemurnian lebih lanjut serta elusidasi struktur. Selain itu, perlu dilakukan uji aktifitas antioksidan secara kuantitatif untuk mengetahui seberapa besar kemampuan antioksidan dari senyawa metabolit ekstrasel tersebut.

## Konflik Kepentingan

Data penelitian ini adalah hasil penelitian penulis dan penulis menyatakan tidak ada konflik terhadap kepentingan tertentu.

## Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada UPT Laboratorium Terpadu dan Sentra Inovasi Teknologi (LTSIT) Universitas Lampung yang telah banyak memberikan dukungan terhadap penulis dalam menyelesaikan penelitian.

## Daftar Pustaka

- [1] I. Romieu, F. Castro-Giner, N. Kunzli, and J. Sunyer, "Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review", *Eur Respir J*, Vol. 31, pp. 179–196, 2008.
- [2] B. Poljšak and R. Fink, "The Protective Role of Antioxidants in the Defence against ROS/RNS-Mediated Environmental Pollution", *Hindawi: Oxidative Medicine and Cellular Longevity* Volume, 2014.
- [3] J. F. Lesgards, P. Durand, M. Lassarre, P. Stocker, G. Lesgards, A. Lanteaume, M. Prost, and M. P. L. Michel, "Assessment of Lifestyle Effects on the Overall Antioxidant Capacity of Healthy Subjects," *Environmental Health Perspectives*, Vol. 110, No. 5, pp. 479–486, May 2002.
- [4] J. Harasym, R. Oledzki, "Effect of fruit and vegetable antioxidants on total antioxidant capacity of blood plasma", *Nutrition*, Vol. 30, pp. 511–517, 2014.
- [5] S. Arshiya, "The Antioxidant Effect of Certain Fruits: - A Review," *J. Pharm. Sci. & Res.*, Vol.5(12), pp. 265- 268, 2013.
- [6] N. Ravimanan and A. Ninsasala, "Study on antioxidant activity in fruits and vegetables – A Review," *Int. J. Adv. Res. Biol. Sci.* Vol. 4, No. 3, pp. 93-101, 2017.
- [7] G. A. Nayik and A. Gull, Ed., *Antioxidants in Fruits: Properties and Health Benefits*. Singapore: Springer, 2020.
- [8] R. Singh, P. Parivar, M. Singh, A. Bajguz, J. Kumar, S. Singh, V. P. Singh, and S. M. Prasad, "Uncovering Potential Applications of Cyanobacteria and Algal Metabolites in Biology, Agriculture and Medicine: Current Status and Future Prospects", *Front. Microbiol.*, Vol. 8, No. 515, pp1-37, April 2017.
- [9] E. Shannon and N. Abu-Ghannam, "Antibacterial Derivatives of Marine Algae: An Overview of Pharmacological Mechanisms and Applications", *Mar. Drugs*, Vol. 14 No. 81, pp. 1-23, 2016.
- [10] K. A. M. Andrade, C. Lauritano, G. Romano and A. Ianora, "Marine Microalgae with Anti-Cancer Properties", *Mar. Drugs*, Vol. 16, 165, pp 1-17, 2018.
- [11] M. C. Barbalace, M. Malaguti, L. Giusti, A. Lucacchini, S. Hrelia, and C. Angeloni, "Anti-Inflammatory Activities of Marine Algae in Neurodegenerative Diseases, *Int. J. Mol. Sci.*, Vol. 20, 3061, pp. 1-20, 2019.
- [12] A. Hemalatha, K. Girija, C. Parthiban, C. Saranya, and P. Anantharaman, "Antioxidant properties and total phenolic content of a marine diatom, *Navicula clavata* and green microalgae, *Chlorella marina* and *Dunaliella salina*," *Adv. Appl. Sci. Res.*, Vol. 4(5), pp. 151-157, 2013.
- [13] M.P. Rajishamol, S. Lekshmi, K. C. Vijayalakshmy, and A.V. Saramma, "Antioxidant activity of Cyanobacteria isolated from

- Cochin estuary," *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, vol. 45(8), pp. 974-977, 2016.
- [14] C. Sansone and C. Brunet, *Marine Algal Antioxidants, Antioxidants*, Vol. 9, No. 206, pp 1-4, 2020.
- [15] L. Liu, G. Pohnert, and D. Wei, "Extracellular Metabolites from Industrial Microalgae and Their Biotechnological Potential", *Mar. Drugs*, Vol. 14, 191, 2016.
- [16] A. Latifi, M. Ruiz, & C. C. Zhang, "Oxidative stress in cyanobacteria", *FEMS Microbiol Rev.*, Vol. 33, pp. 258–278, 2009.
- [17] M. Mitterer-Daltoé, J. Bordim, C. Lise, L. Breda, M. Casagrande, V. Lima, "Consumer awareness of food antioxidants. Synthetic vs. Natural", *Food Sci. Technol*, 2020, (online). Available on <https://doi.org/10.1590/fst.15120>.
- [18] C. Caleja, L. Barros, A. L. Antonio, M. Beatriz, P. P. Oliveira, and I.C.F.R. Ferreira, "A comparative study between natural and synthetic antioxidants: Evaluation of their performance after incorporation into biscuits", *Food Chemistry*, Vol. 216, pp. 342–346, 2017.
- [19] M. Carcho, M. F. Barreiro, P. Morales, and I. C. F. R. Ferreira, "Adding Molecules to Food, Pros and Cons: A Review on Synthetic and Natural Food Additives", *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, Vol. 13, pp. 377-399, 2014.
- [20] F. Y. A. Sari, I. M. A. Suryajaya, dan Hadiyanto, "Kultivasi Mikroalga *Spirulina Platensis* Dalam Media Pome Dengan Variasi Konsentrasi Pome Dan Komposisi Jumlah Nutrien", *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, Vol. 1, hal. 487-494, 2012.
- [21] A. Vonshak, *Spirulina Platensis (Arthrospira) : Physiology, Cell-Biology and Biotechnology*. Taylor and Francis e-library, 2002.
- [22] L. A. Martin-Visscher, M. J. V. Belkum, S. G. Tsodikova, R. M. Whittall, J. Zheng, L. M. McMullen, and J. C. Vederas, "Isolation and Characterization of Carnocyclin A, a Novel Circular Bacteriocin Produced by *Carnobacterium maltaromaticum* Ual30", *Applied And Environmental Microbiology*, Vol. 74, No. 15, pp. 4756–4763, 2008.
- [23] J. Wang, Y. D. Yue, F. Tang and J. Sun, "TLC Screening for Antioxidant Activity of Extracts from Fifteen Bamboo Species and Identification of Antioxidant Flavone Glycosides from Leaves of *Bambusa. textilis* McClure", *Molecules*, Vol. 17, pp. 12297-12311, 2012.
- [24] H. Hadiyanto, M. Christwardana, and D. Soetrisnanto, "Phytoremediation of Palm Oil Effluent Mill (POME) by Using Aquatic Plants and Microalgae for Biomass Production", *J. Env. Science and Technology*, Vol. 6 (2), pp. 79-90, 2013.
- [25] M. Silva, L. Castellanos, and M. Ottens, "Capture and Purification of Polyphenols Using Functionalized Hydrophobic Resins", *Ind. Eng. Chem. Res.*, Vol. 57, pp. 5359–5369, 2018.
- [26] R.M. Silverstein, F.X. Webster, and D.J. Kiemle, *Spectrometric Identification Of Organic Compounds*. 7<sup>th</sup> edition. New York: John Wiley & Sons, Inc., 2005.
- [27] S. Bhatia, A. Garg, K. Sharma, S. Kumar, A. Sharma, and A. P. Purohit, "Mycosporine and mycosporine-like amino acids: A paramount tool against ultra violet irradiation", *Pharmacogn Rev.*, Vol. 5, pp. 138–146, December 2011.
- [28] D. M. Hartnell, I. J. Chapman, N. G. H. Taylor, G. F. Esteban, A. D. Turner, and D. I. J. Franklin, "Cyanobacterial Abundance and Microcystin Profiles in Two Southern British Lakes: The Importance of Abiotic and Biotic Interactions", *Toxins*, Vol. 12:503, 2020.
- [29] K. P. Lawrence, P. F. Long, and A. R. Young, "Mycosporine-Like Amino Acids for Skin Photoprotection", *Current Medicinal Chemistry*, Vol. 24, pp. 1-16, 2017.
- [30] E. Chrapusta, A. Kaminski, K. Duchnik, B. Bober, M. Adamski, and J. Bialczyk, "Mycosporine-Like Amino Acids: Potential Health and Beauty Ingredients", *Mar. Drugs*, Vol. 15, 326, 2017.
- [31] I. Syaichurrozi dan Jayanudin, "potensi limbah cair tahu sebagai media tumbuh spirulina platensis," *Jurnal Integrasi Proses*, Vol. 6, hal. 64-68, Desember 2016.