



## Comparative Study of Antioxidant Phycocyanin Extracts Activity between *S. platensis* with *S. fusiformis* Using DPPH Method

Dwi Margiati\*, Danni Ramdhani, Asri P. Wulandari

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran, Jatinangor, Sumedang - Indonesia

Submitted 17 April 2017; Revised 5 August 2017; Accepted 28 June 2018; Published 27 June 2019

\*Corresponding author: [dwimargiati1302@gmail.com](mailto:dwimargiati1302@gmail.com)

### Abstract

Phycocyanin is Spirulina's content which has antioxidant activity to inhibit oxidation process or formation of free radicals that play a role in the initiation high-degenerative diseases. This research is aim to determine the best antioxidant activity of *S. platensis* with *S. fusiformis* through the best extraction methods of Spirulina cell between distilled water and PBS (Phosphate Buffer Solution). This research method existed Spirulina cell extraction used distilled water and PBS, and then followed by fractionation and dialysis phycocyanin extract, afterward tested the antioxidant activity used DPPH method. The result of extraction used PBS with a salt concentration of ammonium sulfate 30% produced the best purity value of phycocyanin extract of both types of Spirulina. Results of tested the antioxidant activity, *S. fusiformis* has the best antioxidant activity compared with *S. platensis* with a value of 311.43 ppm and 387.36 ppm, respectively.

**Keywords:** Antioxidant, DPPH, Phycocyanin extracts, *S. fusiformis*, *S. platensis*.

### Studi Komparatif Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fikosianin *S. platensis* dengan *S. fusiformis* Menggunakan Metode DPPH

#### Abstrak

Fikosianin merupakan kandungan dalam Spirulina yang memiliki aktivitas antioksidan untuk menghambat proses oksidasi atau pembentukan radikal bebas yang berperan tinggi dalam inisiasi penyakit degeneratif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan terbaik antara jenis *S. platensis* dengan *S. fusiformis* melalui metode ekstraksi terbaik sel Spirulina antara aquadest dan PBS (Phosphate Buffer Solution). Metode penelitian ini meliputi ekstraksi sel Spirulina dengan menggunakan aquadest dan PBS, lalu dilanjutkan dengan fraksinasi dan dialisis ekstrak fikosianin, serta pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. Hasil ekstraksi menggunakan PBS dengan konsentrasi garam Ammonium sulfat 30% menghasilkan nilai kemurnian ekstrak fikosianin terbaik dari kedua jenis Spirulina. Hasil pengujian aktivitas antioksidan, ekstrak fikosianin *S. fusiformis* memiliki aktivitas antioksidan terbaik dibandingkan dengan *S. platensis* dengan nilai 311,43 ppm dan 387,36 ppm masing-masingnya.

**Kata Kunci:** Antioksidan, DPPH, Ekstrak Fikosianin, *S. fusiformis*, *S. platensis*.

## 1. Pendahuluan

Antioksidan adalah zat yang mampu mencegah pembentukan reaksi radikal bebas (peroksida) dalam oksidasi lipid atau senyawa yang menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi.<sup>1</sup> Proses oksidasi tersebut dikenal sebagai tekanan oksidatif (*oxidative stress*) yang dapat menyebabkan kerusakan sel-sel jaringan dan enzim-enzim. Keadaan tersebut dapat menginisiasi terjadinya penyakit degeneratif seperti jantung koroner, katarak, gangguan kognisi dan kanker.<sup>2</sup>

Radikal bebas yang merupakan molekul yang tidak stabil karena kehilangan elektronnya akan menerima elektron dari antioksidan. Secara alami, tubuh memiliki kemampuan untuk menghasilkan antioksidan, namun jika jumlah antioksidan tidak cukup melindungi sel tubuh dari jumlah radikal bebas yang tinggi maka kita memerlukan antioksidan dari luar seperti makanan.<sup>3</sup>

Salah satu contoh sumber antioksidan dari luar adalah *Spirulina* karena mengandung fikosianin.<sup>4</sup> *Spirulina* terdiri dari beberapa jenis dan *Spirulina* yang sedang dikembangkan di Universitas Padjadjaran yaitu *Spirulina platensis* dan *Spirulina fusiformis*. Berdasarkan penelitian Wang *et. al.* menyatakan bahwa perbedaan jenis spesies *Spirulina* mempengaruhi kandungan komponen fikosianin sehingga mempengaruhi aktivitas antioksidannya.<sup>5</sup>

Aktivitas antioksidan *S. platensis* pernah dilaporkan oleh Barus dengan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl*) memberikan aktivitas rendah karena tidak dilakukan ekstraksi terlebih dahulu saat analisis dan tidak melakukan pemurnian fikosianin.<sup>6</sup> Penelitian lain yang dilakukan terhadap *S. fusiformis* juga mendapatkan hasil aktivitas antioksidan dengan kategori rendah yaitu memiliki persen penghambatan 5,920% pada konsentrasi ekstrak biomassa *Spirulina* 2000 ppm.<sup>7</sup> Sedangkan pada dasarnya fikosianin yang berperan sebagai antioksidan merupakan kandungan pigmen tertinggi dalam *Spirulina* sp. yang mencapai 14-20% dari berat kering.<sup>8</sup> Maka dari itu, dilakukan pengujian lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dari kedua jenis *Spirulina* tersebut.

Pengujian aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan metode DPPH sebagai radikal bebas dan melihat perbandingan aktivitas antioksidannya. Metode DPPH merupakan metode yang sederhana, cepat dan mudah untuk screening aktivitas penangkap radikal beberapa senyawa.<sup>9</sup> Penelitian ini dilakukan dengan memperbaiki metode sebelumnya melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut aquades dan PBS (*Phosphate Buffer Solution*), lalu dilanjutkan dengan fraksinasi ekstrak fikosianin sehingga diharapkan kemurnian ekstrak fikosianin dapat lebih tinggi dan dapat menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih besar dari kedua jenis *Spirulina* tersebut

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2015 hingga Maret 2016 di Laboratorium Pusat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat departemen Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal Universitas Padjadjaran.

## 2. Metode

### 2.1. Alat dan Bahan

Pada penelitian ini alat yang digunakan adalah *Freeze dryer* (Christ Alpha 1-2 LD), Sentrifugator (Hettich EBA 20), timbangan analitik (Dragon 204 dan Ohaus), spektrofotometer UV-VIS (Specord 200 analytik jena), Ultrasonik (Neyo), plastik selofan *Shaker* (IKA @260 Basic) dan alat-alat gelas yang umum digunakan di Laboratorium.

Bahan yang digunakan adalah *Spirulina platensis* dan *Spirulina fusiformis*, aquades, DPPH (*1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl*) (Merck), Ammonium sulfat (Merck), Potassium dihidrogen fosfat (Merck), disodium hidrogen fosfat (Merck), Vitamin C, dan metanol pro analisis (Merck).

### 2.2. Ekstraksi Sel *Spirulina*

Proses ekstraksi fikosianin dilakukan dengan menggunakan pelarut 0,1 M PBS dan aquades. Ekstraksi dan pemurnian fikosianin *Spirulina* dilakukan berdasarkan modifikasi metode yang dikembangkan oleh Hayashi *et. al.* dan Silveira *et. al.*<sup>10,11</sup>

*Spirulina* yang telah dikeringkan

menjadi serbuk kering dilarutkan dengan masing-masing pelarut ekstraksi yang digunakan dengan konsentrasi masing-masing pelarut 4% (0,04 g/mL). Selanjutnya larutan disonikasi selama 30 menit dan shaker selama 24 jam. Larutan tersebut disentrifugasi 12.000 rpm, suhu 4°C selama 25 menit hingga menghasilkan suatu endapan dan supernatan. Fikosianin yang merupakan komponen yang terlarut dalam pelarut akan terakumulasi dalam supernatan yang dihasilkan. Kemudian, supernatan tersebut dipisahkan.

### 2.3. Penyiapan Fraksi-fraksi Protein Kompleks

Supernatan yang dihasilkan selanjutnya dilarutkan dengan larutan 0,025 M PBS untuk diendapkan dalam 30% dan 70% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Prinsip pengendapan dengan ammonium sulfat berdasarkan pada kelarutan protein yang merupakan interaksi antara gugus polar dengan molekul air, interaksi ionik protein dengan garam dan daya tolak-menolak protein yang bermuatan sama.<sup>12</sup> Endapan protein yang salah satu proteinnya adalah fikosianin dipisahkan melalui sentrifugasi pada kecepatan 12.000 rpm dengan suhu 4°C selama 10 menit. Kemudian, endapan tersebut dilarutkan dengan menggunakan 0,025 M PBS pH 7 untuk didialisis dengan menggunakan kantong selofan yang direndam dalam PBS 0,025 M pH 7 diatas penangas es. Dialisat yang dihasilkan dikeringbekukan menggunakan *freeze dryer*.

### 2.4. Uji Rendemen dan Kemurnian Ekstrak Fikosianin dalam Fraksi Protein Kompleks

Seluruh filtrat dari kedua jenis *Spirulina* ditimbang 0,05 g dan dilarutkan dengan 0,025 M PBS pH 7 sebanyak 500 µl (konsentrasi 0,1 µg/ml). Setelah itu diencerkan menggunakan 0,001 M PBS pH 7 dengan pengenceran 10X. Uji kemurnian dan konsentrasi fikosianin ini dilakukan dengan melihat absorbansi pada panjang gelombang 280, 615, 620, dan 652 nm. Untuk mengetahui rendemen dan kemurnian ekstrak fikosianin dapat diukur berdasarkan rumus berikut ini:

$$PC = \frac{A_{615 \text{ nm}} - 0,474 (A_{652 \text{ nm}})}{5,34}$$

$$PP = \frac{A_{620 \text{ nm}}}{A_{280 \text{ nm}}}$$

PC : *Phycocyanin Concentration*

PP : *Phycocyanin Purity*

Untuk menghitung hasil rendemen ekstraksi digunakan rumus :

$$yield = \frac{PC \times V}{Massa}$$

V adalah volume pelarut (mL), dan massa adalah berat serbuk kering hasil pengendapan yang telah dikeringbekukan (mg).<sup>11</sup>

### 2.5. Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan *S. platensis* dan *S. fusiformis* dilakukan dengan menggunakan DPPH mengacu pada metode Molyneux.<sup>13</sup> Sampel uji yang merupakan hasil dari pengendapan yang telah dikeringbekukan ditimbang 0,05 g dan dilarutkan dalam metanol p.a 50 mL lalu diencerkan menjadi 200, 400, 600, dan 800 ppm. Sebagai pembanding, vitamin c 2,5 mg dilarutkan dalam metanol p.a 50 mL dan diencerkan menjadi 2,4,6, dan 8 µg/mL. Pengukuran absorbansi sampel dilakukan dengan mencampurkan 2 mL larutan uji kedua jenis *Spirulina* dalam berbagai konsentrasi dengan larutan DPPH 40 ppm sebanyak 3 mL, dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yaitu 515 nm. Harga IC<sub>50</sub> dihitung dari kurva regresi linier antara % inhibisi serapan dengan berbagai konsentrasi larutan uji dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \left[ 1 - \left( \frac{A_{\text{uji}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \right] \times 100\%$$

## 3. Hasil

3.1. Hasil Rendemen Ekstrak Fikosianin pada *S. platensis* dan *S. fusiformis*  
Setelah melakukan ekstraksi sel *S.*

*platensis* dan *S. fusiformis* yang dilakukan dengan menggunakan berbagai macam pelarut, perhitungan rendemen dan kemurnian fikosianin dapat ditentukan melalui absorbansi yang dihasilkan pada panjang gelombang 620 nm yang merupakan karakteristik panjang gelombang fikosianin.<sup>13</sup> Hasil rendemen ekstrak fikosianin pada kedua *Spirulina* ditampilkan pada Gambar 1. Dan hasil kemurnian fikosianin ditunjukkan pada Gambar 2.

Hasil perhitungan kemurnian yang berasal dari rumus perbandingan absorbansi pada 620 nm dan absorbansi 280 nm ekstrak fikosianin dapat dilihat Gambar 2.

### 3.2. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dari Fikosianin *S. platensis* dan *S. fusiformis*

Hasil perhitungan nilai  $IC_{50}$  dari sampel ekstrak fikosianin *S. platensis* dan *S. fusiformis*, dengan pembanding sebagai kontrol positif adalah larutan vitamin C dapat dilihat pada Tabel 1.

## 4. Pembahasan

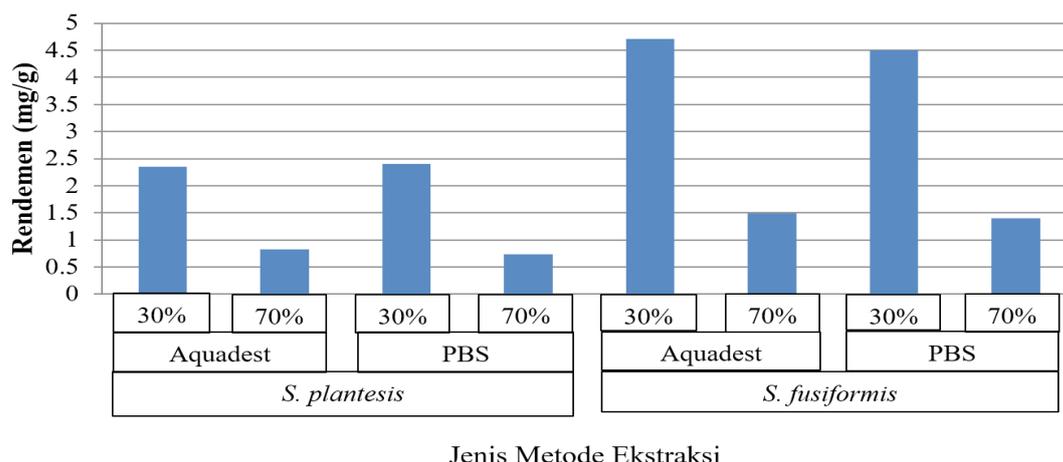
### 4.1. Rendemen Ekstrak Fikosianin pada *S. platensis* dan *S. fusiformis*

Berdasarkan pada Gambar 1, *S.*

*fusiformis* mengandung rendemen fikosianin dalam protein kompleks hasil fraksinasi lebih tinggi dibandingkan *S. platensis* pada kedua pelarut yang digunakan dengan konsentrasi pengendapan  $(NH_4)_2SO_2$  30% dibandingkan  $(NH_4)_2SO_4$  70%.

Pelarut aquades dan PBS tidak memberikan perbedaan rendemen yang jauh dalam mengekstrak sel *S. platensis* maupun *S. fusiformis* untuk menghasilkan fikosianin dalam kompleks protein yang diekstrak. Hal ini disebabkan karena kedua sifat pelarut tersebut adalah polar sesuai dengan sifat biomassa *Spirulina* yang juga polar sehingga kedua pelarut tersebut memiliki kemampuan yang hampir sama dalam mengekstrak sel *Spirulina*.<sup>14</sup>

Ammonium sulfat yang bersifat menarik air menjauh dari protein akan meningkatkan jumlah protein yang saling berinteraksi dan mengendap pada konsentrasi yang optimum. Meningkatnya jumlah konsentrasi ammonium sulfat juga meningkatkan jumlah protein yang mengendap, namun dengan bertambahnya konsentrasi ammonium sulfat tersebut tidak memberikan rendemen yang lebih baik. Konsentrasi ammonium sulfat 30% merupakan konsentrasi yang lebih



Jenis Metode Ekstraksi

Ket:

30% : konsentrasi amonium sulfat yang digunakan adalah 30%

70% : konsentrasi amonium sulfat yang digunakan adalah 70%

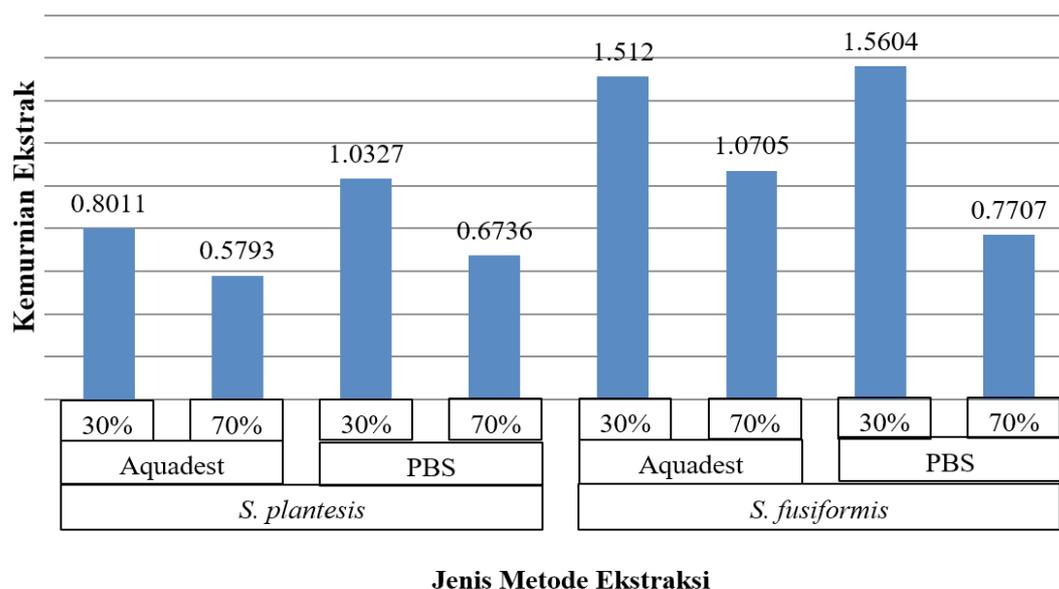
Aquades : pelarut yang digunakan adalah aquades

PBS : pelarut yang digunakan adalah PBS

*S. plantensis* : *Spirulina* yang diekstraksi adalah *S. plantensis*

*S. fusiformis* : *Spirulina* yang diekstraksi adalah *S. fusiformis*

**Gambar 1.** Hasil rendemen ekstrak fikosianin dalam protein kompleks pada *S. plantensis* dan *S. fusiformis*



**Gambar 2.** Hasil perhitungan kemurnian ekstrak fikosianin dari *S. plantensis* dan *S. fusiformis*

optimum dalam tahap awal fraksinasi ekstrak protein kompleks yang mengandung fikosianin dibandingkan konsentrasi 70%.

#### 4.2. Hasil Perhitungan Kemurnian Ekstrak Fikosianin pada *S. platensis* dan *S. fusiformis*

Panjang gelombang 620 nm merupakan karakteristik panjang gelombang fikosianin sedangkan panjang gelombang 280 nm merupakan panjang gelombang dari protein.<sup>11</sup> *S. fusiformis* memiliki kemurnian ekstrak fikosianin lebih tinggi dibandingkan *S.*

*platensis* pada kedua pelarut yang digunakan dengan konsentrasi pengendapan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  30% dibandingkan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  70%.

Kemurnian ekstrak fikosianin pada kedua jenis *Spirulina* menghasilkan nilai yang lebih tinggi pada pelarut PBS dibandingkan aquades. Ini menunjukkan bahwa pelarut PBS menarik fikosianin lebih murni dibandingkan pelarut aquades pada kedua jenis *Spirulina*. Hal ini didukung oleh Satyantini, *et al.* yang menyatakan bahwa pelarut buffer fosfat adalah pelarut terbaik untuk ekstraksi fikosianin.<sup>15</sup>

Apabila dibandingkan dengan nilai

**Tabel 1.** Nilai IC50 Sampel dan Pembanding

Sampel Uji	Kons. (ppm)	Persen Inhibisi (%)	Persamaan Regresi Linier	IC50 (ppm)
<i>Spirulina plantensis</i>	200	33,16	$y = 0,0856x + 16,842$ R= 0,9985	387,36
	400	52,09		
	600	68,74		
	800	84,69		
<i>Spirulina fusiformis</i>	200	44	$y = 0,0823x + 24,369$ R= 0,9558	311,43
	400	55,94		
	600	67,91		
	800	94,54		
Vitamin C (Pembanding)	2	12,59	$y = 11,429x - 7,2743$ R= 0,9442	5,011
	4	37,87		
	6	71,33		
	8	77,61		

kemurnian ekstrak fikosianin dari penelitian yang dilakukan oleh Satyantini, *et al.* yang mendapatkan hasil sebesar 0,9024 pada *S. platensis* dengan pelarut PBS, nilai kemurnian ekstrak fikosianin yang diperoleh dari *S. platensis* maupun *S. fusiformis* pada pelarut PBS memberikan nilai yang lebih tinggi. Satyantini, *et al.* melakukan ekstraksi fikosianin pada suhu ruang.<sup>16</sup> Sedangkan penelitian ini dilakukan pada suhu yang dijaga tetap rendah ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ). Hal tersebut diduga karena fikosianin merupakan pigmen protein yang kestabilannya sangat dipengaruhi oleh suhu dan pH dan sifat fikosianin yang tidak stabil pada suhu tinggi sehingga ekstraksi fikosianin pada suhu rendah lebih efisien dibandingkan suhu ruang yang lebih tinggi.<sup>17</sup>

4.3. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan dari Fikosianin *S. platensis* dan *S. fusiformis*  
Optimasi pengukuran senyawa antiradikal DPPH dilakukan dengan penentuan panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu pada 515 nm, operating time larutan DPPH dalam methanol yaitu 35-40 menit, dan waktu inkubasi untuk vitamin C dan fikosianin adalah 90 menit.

Parameter yang digunakan dalam aktivitas antioksidan dengan menggunakan DPPH adalah  $\text{IC}_{50}$  atau *Inhibition Concentration* yaitu konsentrasi ekstrak yang mampu meredam aktivitas DPPH sebanyak 50%.

Berdasarkan hasil tersebut *S. fusiformis* yang memiliki kemurnian ekstrak fikosianin lebih tinggi dibandingkan *S. platensis* juga memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi. Sedangkan vitamin c menghasilkan  $\text{IC}_{50}$  yang jauh lebih kecil dibandingkan kedua jenis *Spirulina* tersebut, hal ini disebabkan karena vitamin C merupakan senyawa yang murni dibandingkan dengan zat aktif fikosianin dari *Spirulina*.

Hasil aktivitas antioksidan pada *S. fusiformis* pada penelitian ini menghasilkan nilai yang lebih besar dibandingkan penelitian sebelumnya yang dilakukan Saputra dengan hasil persen inhibisi 5,920% pada konsentrasi 2000 ppm. Sedangkan pada penelitian ini persen inhibisi sudah mencapai >30% pada

konsentrasi 200 ppm. Hal ini disebabkan karena pada penelitian ini dilakukan tahap awal pemurnian fikosianin melalui fraksinasi ekstrak fikosianin dengan menggunakan  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  dan dialisis sehingga memberikan aktivitas antioksidan yang jauh lebih besar dan dilakukan pula tahap pemurnian fikosianin sehingga memberikan aktivitas antioksidan yang jauh lebih besar

## 5. Simpulan

Metode ekstraksi menggunakan pelarut PBS (*Phosphate Buffer Solution*) 0,1 M pH 7 merupakan metode yang paling efektif dengan pengendapan ammonium sulfat 30% yang menghasilkan nilai kemurnian ekstrak fikosianin tertinggi yaitu 1,5604 pada *Spirulina fusiformis* dan 1,0327 pada *Spirulina platensis*.

Berdasarkan pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, *Spirulina fusiformis* memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Spirulina platensis* dengan nilai 311,43 ppm dan 387,36 ppm masing-masingnya.

## Daftar Pustaka

1. Winarsi, H. Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasinya dalam Kesehatan. Yogyakarta: Kanisius. 2007 : 13-15
2. Kumalaningsih, Sri. Antioksidan Alami-Penangkal Radikal Bebas. Surabaya: Trubus Agrisarana. 2006;7-86.
3. Benedetti S, Benvenuti F, Pagliarani S, Francogli S, Scoglio S, Canestrari F. Antioxidant properties of a novel phycocyanin extract from blue-green alga *Aphanizomenon flos-aquae*. *Life Sciences*. 2004;75: 2353-2362.
4. Chopra K, Bishnoi M. Antioxidant profile of *Spirulina*: a blue green microalga. Perancis: CRC Press. 2007;100:1137-1143
5. Wang L, Pan B, Sheng J, Xu J, Hu Q. Antioxidant activity of *Spirulina platensis* extracts by supercritical carbon dioxide extraction. *Food Chemistry*. 2007;105: 36-41.
6. Barus, Dita Agustina. Kandungan

- Fikosianin, Protein, Dan Antioksidan *Spirulina platensis* Yang Ditumbuhkan Dalam Media Dan Umur Kultivasi Berbeda. (Skripsi). Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. 2013.
7. Saputra, Andika Tri. Komposisi Kimia Dan Pigmen *Spirulina Fusiformis* Pada Umur Panen Yang Berbeda. (Skripsi). Bogor: Program Studi Teknologi Hasil Perikanan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. 2009.
  8. McCarty, M.F. Clinical potential of spirulina as a source of phycocyanobilin. *Journal of Medicinal Food*. 2007;10(4): 566-570.
  9. Marxen, K., Heinrich, K., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., dan Hansen, U. Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*. 2007;7:2080-2095.
  10. Hayashi, O., S. Ono, K. Ishii, Y.H. Shi, T. Hirahashi and T Katoh. Enhancement of proliferation and differentiation in bone marrow hematopoietic cells by *Spirulina (Arthrospira) platensis* in mice. *Journal of Applied Phycology*. 2006;18:47-56.
  11. Silveira, S.T., J.F.M Burkert, J.A.V Costa, C.A.V Burkert and S.J Kalil. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. *Bioresources Technology*. 2007;98: 1629-1634.
  12. Lehninger, Albert. *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Jakarta: Erlangga. 2008; 877-939
  13. Molyneux P. The use of stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science Technology*. 2004;26: 211-219.
  14. Boussiba, S; Richmod, A. Isolation and Purification of Phycocyanin from the Blue Green Alga *Spirulina platensis*. *Arch Microbiol*. 1979;120:155-159.
  15. Arlyza, I.S. Isolasi Pigmen Biru Phycocyanin dari Mikroalga *Spirulina platensis*. *Oseanologi dan Limnologi Indonesia*. 2005;38:79-92
  16. Satyantini, Woro H., Sukenda, Enang Harris, dan Nur Bambang P. Teknik Produksi, Ekstraksi Dan Karakterisasi Fikosianin *Spirulina platensis* Sebagai Bahan Imunostimulan. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*. 2014;40(2): 119-131
  17. Yan, S., Zhu LP, Su HN, Zhang XY, Chen XL, Zhou BC, Zhang YZ. Single-step chromatography for simultaneous purification of C-phycocyanin and allophycocyanin with high purity and recovery from *Spirulina (Arthrospira) platensis*. *J. Appl. Phycol*. 2011.; 23: 1-6.