

Pengaruh Pencahayaan terhadap Kandungan Pigmen *Tetraselmis chuii* sebagai Sumber Antioksidan Alami

Nada Kristiani Ginting, Sri Sedjati*, Endang Supriyantini, Ali Ridlo

*Departemen Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Diponegoro
Kampus Tembalang, Semarang 50275 Telp/Fax. 024-7474698
Email: sedjati69@gmail.com*

Abstrak

Tetraselmis chuii merupakan alga hijau yang mengandung senyawa bioaktif seperti pigmen klorofil dan karotenoid. Pigmen klorofil dapat menurunkan risiko terkena kanker dan berpotensi sebagai antioksidan. Salah satu faktor eksternal yang berpengaruh terhadap kandungan pigmen adalah cahaya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh warna pencahayaan terhadap biomassa, kandungan pigmen dan aktivitas antioksidan *T. chuii*. Rancangan penelitian yang digunakan adalah rancangan acak blok dengan tiga kali pengulangan. Perlakuan pencahayaan yang diberikan adalah putih, merah, dan biru. Perhitungan kepadatan dan pengukuran parameter kualitas air dilakukan setiap hari. Pemanenan dilakukan pada saat fase stasioner hari ke – 4. Kadar pigmen (klorofil a, b dan karotenoid) dilakukan secara spektrofotometri dan uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kepadatan sel tertinggi terdapat pada perlakuan pencahayaan putih sebesar 95.800 sel/ml. Kandungan pigmen klorofil a dan klorofil b total tertinggi terdapat pada pencahayaan merah (48,28 dan 40,86 µg/ml), serta karotenoid total tertinggi terdapat pada pencahayaan biru (6,70 µg/ml). Perlakuan perbedaan pencahayaan memberikan pengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan pigmen (klorofil a, dan b). Aktivitas antioksidan ekstrak *T. chuii* semua perlakuan tergolong sangat lemah (IC_{50} lebih dari 200 ppm).

Kata kunci: *Tetraselmis chuii*, klorofil, karotenoid, pigmen, antioksidan.

Abstract

Effect of Lighting on Pigments Content Tetraselmis chuii Source of Natural Antioxidants

Tetraselmis chuii is a green algae which is containing bioactive compounds such as chlorophyll and carotenoid pigments. Chlorophyll may reduce the risk of cancer and potentially as an antioxidant. This research aims to know the effect of light colour on biomass, pigment and antioxidant activity content of *T. chuii*. The research design used was a complete randomized design with three repetitions. The light treatments provided are white, red, and blue. Calculation of density and measurement of water quality parameters on daily basis. Harvesting is done during the stationary phase at fourth day. Pigment levels (chlorophyll a, b and carotenoids) were performed by spectrophotometer and an antioxidant activity test was performed by DPPH (1,1-diphenyl-2-picrilhidrazil). The results showed that different colour lighting treatments had an effect ($P < 0.05$) on pigment content (chlorophyll a, b, and carotenoid). The highest total chlorophyll content of a and chlorophyll b were found in the highest red light (48.28 and 40.86 µg/ml) and the highest total carotenoids were in blue light (6.70 µg/ml). The highest cell desity in white lighting treatment is 95,800 cell/ml. Potential antioxidant activity of *T. chuii* extract for all treatments were very low (IC_{50} more than 200 ppm).

Keywords: *Tetraselmis chuii*, chlorophyll, carotenoids, pigments, antioxidant

PENDAHULUAN

Tetraselmis chuii merupakan salah satu mikroalga laut yang memiliki beberapa kandungan pigmen antara lain klorofil dan karotenoid. *Tetraselmis chuii* memiliki prospek cerah di masa

mendatang sebagai sumber pangan ataupun produk kesehatan karena kandungan gizinya yang tinggi. Menurut Arkronrat *et al.* (2006), *T. chuii* mengandung protein 25,70 %, lemak 9,40 %, dan karbohidrat 16,60 %. Dilaporkan pula oleh Sani *et*

al. (2014), *T. chuii* mengandung protein 48,42%, lemak 9,70%, karbohidrat 12,10%, dan total klorofil 3,65-19,20 mg/g. Menurut Mohamed dan Omar (2012), *T. chuii* mengandung klorofil a (0.73 µg/ml), lemak (29.51 %), karbohidrat (13.93 %).

Tetraselmis chuii memanfaatkan energi matahari dan CO₂ untuk keperluan fotosintesis. Intensitas cahaya sangat menentukan pertumbuhan *T. chuii* khususnya biopigmen yang dihasilkan dari lama penyinaran dan panjang gelombang yang digunakan untuk fotosintesis, yang berguna untuk pembentukan senyawa karbon organik. Menurut Richmond (2004), selama proses fotosintesis klorofil akan menangkap warna cahaya yang spesifik yaitu sebagian besar pencahayaan biru (450–475 nm) dan merah (630–675 nm). Warna cahaya merah dan biru dapat meningkatkan pigmen klorofil dibandingkan cahaya putih.

Senyawa bioaktif yang dihasilkan *T. chuii* adalah pigmen klorofil dan karotenoid. Klorofil dapat digunakan sebagai pewarna pada bidang farmasi, dan digunakan pula untuk produk kesehatan. Mengonsumsi klorofil dapat menurunkan risiko terkena kanker dan berpotensi sebagai antioksidan (Sani *et al.*, 2014). *T. chuii* mempunyai aktivitas antioksidan berkisar antara 2,55-31,29 mg/ml dan total klorofil berkisar antara 3,65-19,20 mg/g (Sani *et al.*, 2014). Menurut Widowati *et al.* (2017) dan Maligan *et al.* (2015), aktivitas antioksidan (IC₅₀) *T. Chuii* adalah 71,36 ppm dan 28,45 ppm.

Antioksidan adalah zat yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah terjadinya proses oksidasi karena menangkap elektron bebas. Antioksidan mampu menghambat terjadinya penyakit degeneratif dan menghambat peroksidasi lipid pada makanan. Antioksidan termasuk salah satu jenis bahan tambahan pangan yang dapat digunakan untuk melindungi komponen makanan seperti lemak dan minyak.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh pencahayaan berbeda terhadap pertumbuhan dan kandungan pigmen klorofil dan karotenoid *T. chuii*. Kandungan pigmen diduga berpengaruh terhadap bioaktivitas ekstrak *T. chuii*, maka dianalisis juga aktivitas antioksidannya.

MATERI DAN METODE

Materi yang digunakan dalam penelitian ini adalah stok murni mikroalga *T. chuii* yang diperoleh dari Laboratorium Balai Besar Pengembangan Budidaya Air Payau (BBPBAP) Jepara.

Kultur *T. chuii* dilakukan dengan menggunakan 9 akuarium berkapasitas 3 L sebagai wadah media air. Air laut dengan salinitas 30 ppt

sebanyak 1,5 L dimasukkan kedalam akuarium dan ditambahkan pupuk sebanyak 2 ml (1 ml/L) ke dalam masing-masing akuarium (Tabel 1). Dilakukan aerasi hingga homogen, kemudian tambahkan 0,5 L inokulan *T. chuii*.

Tabel 1. Komposisi Pupuk *T. Chuii*

No	Nama	Komposisi (mg/L)
1	Urea	80 – 100
2	TSP	40 – 50
3	EDTA	3 – 5
4	ZA	20 – 25
5	FeCl ₃	0,5 – 1
6	Vit. B ₁₂	0,001

Ekstraksi *T. chuii*

Sampel yang sudah kering diekstraksi secara maserasi berturut – turut menggunakan pelarut aseton dan metanol. Ekstraksi pertama dilakukan dengan menggunakan pelarut aseton dengan perbandingan 1 : 20 (1 gram : 20 ml aseton), diamkan selama 24 jam. Selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, lalu disaring menggunakan kertas saring Whatmann No 1. Filtrat yang diperoleh dimasukkan kedalam vial dan ditutup dengan alumunium foil. Residunya direndam kembali menggunakan pelarut metanol selama 1 x 24 jam, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, dan disaring menggunakan kertas saring Whatmann no. 1, Filtrat dimasukkan kedalam vial dan ditutup dengan alumunium foil. Filtrat yang diperoleh dari kedua pelarut tersebut diuji kadar pigmen menggunakan spektrofotometer dan kromatografi lapis tipis, selanjutnya diukur aktivitas antioksidannya.

Analisis Kadar Pigmen

Analisis kadar pigmen dilakukan pada ekstrak pelarut aseton dan metanol dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Kurniawan *et al.*, 2010). Pigmen total didapatkan dari penjumlahan hasil pigmen kedua ekstrak tersebut. Kadar pigmen metanol dihitung menurut Lichtentaler dan Lichtentaler (1983). Kadar pigmen aseton dihitung menurut Arnon (1949).

Analisis Pigmen dengan KLT

Identifikasi pigmen dalam ekstrak mikroalga dilakukan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan silika gel sebagai fase diam dan fase gerak adalah aseton : dietileter : heksana (2:3:6) (Kondororik *et al.*, 2015).

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan menggunakan metode spektrofotometri menurut Maligan *et al.* (2015) dengan modifikasi variasi konsentrasi yaitu 200, 400, 600, 800, dan 1000 ppm dan tiap konsentrasi tersebut diambil 1 ml dan dimasukkan kedalam vial yang berisi 3 ml DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) 0,1 mM, selanjutnya diinkubasi selama 30 menit. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm. Persentase inhibisi dihitung dengan menggunakan rumus Rosahdi *et al.* (2015).

Data persentase inhibisi yang diperoleh selanjutnya dibuat grafik dengan memasukkan nilai konsentrasi pada sumbu x dan persentase inhibisi pada sumbu y, sehingga diperoleh persamaan regresi linear $y = bx + a$. Nilai IC_{50} dihitung dengan memasukkan nilai $y=50$, sehingga dihasilkan nilai x sebagai konsentrasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

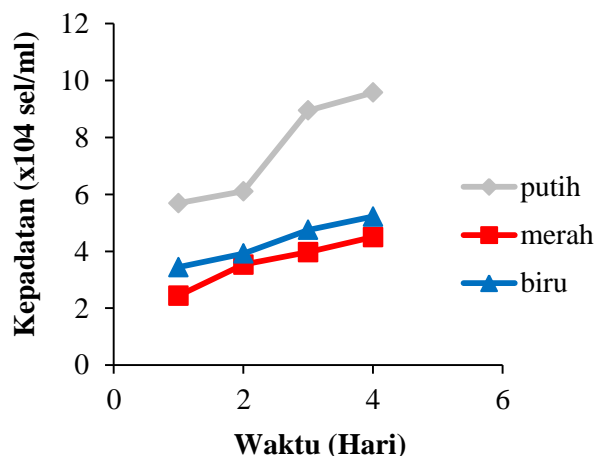
Hasil pengukuran kualitas air yang dilakukan selama penelitian masih dalam kisaran normal untuk kehidupan *T.Chuii* (Maligan *et al.*, 2015), suhu berkisar 26-28°C, salinitas 30 ppt, dan pH 7. Berdasarkan hasil kultur *T. Chuii* diperoleh rata – rata kepadatan sel yang semakin meningkat, dan kepadatan tertinggi dicapai pada hari ke – 4. Kepadatan *T. Chuii* tertinggi terdapat pada warna cahaya putih yaitu 95.800 sel/ml, kemudian warna biru 52.200 sel/ml dan terendah warna merah 45.000 sel/ml (Tabel 2).

Laju pertumbuhan yang paling tinggi terdapat pada penyinaran cahaya putih dibandingkan dengan warna biru dan merah (Gambar 1).

Energi cahaya yang dikumpulkan oleh pigmen fotosintesis dalam pencahayaan warna putih lebih banyak digunakan untuk melakukan proses fotosintesis (Kurniawan *et al.*, 2014). Ketika energi dan oksigen tersedia, mikroalga akan memanfaatkannya untuk pembelahan sel sehingga

Tabel 2. Kepadatan *T. Chuii* pada Pencahayaan Berbeda

Hari	Kepadatan Sel (x 10 ⁴ sel/ml)		
	Putih	Merah	Biru
1	5,69 ± 0.49	2,44 ± 0.13	3,44 ± 1.03
2	6,11 ± 0.56	3,53 ± 0.41	3,92 ± 1.04
3	8,95 ± 0.26	3,97 ± 0.05	4,75 ± 0.72
4	9,58 ± 0.51	4,50 ± 0.14	5,22 ± 0.41



Gambar 1. Laju Pertumbuhan *T. Chuii*

kepadatan mikroalga akan bertambah karena pertumbuhan mikroalga akan terjadi secara cepat.

Identifikasi Pigmen *T. Chuii*

Analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis, pigmen klorofil a dari ekstrak metanol lebih besar dibandingkan dengan klorofil b dan karotenoid. Pigmen klorofil a, dan klorofil b tertinggi terdapat pada pencahayaan merah yaitu 21,25 µg/ml, dan 16,32 µg/ml, kemudian pencahayaan biru yaitu 16,86 µg/ml, dan 12,42 µg/ml dan terendah pada pencahayaan putih yaitu 14,41 µg/ml, 10,35 µg/ml. Sedangkan pigmen karotenoid pencahayaan biru lebih tinggi dibandingkan dengan pencahayaan merah dan putih (Tabel 3).

Kadar pigmen tertinggi pada ekstrak aseton klorofil a, klorofil b, dan karotenoid adalah pada pencahayaan putih yaitu 28,21; 26,59 dan 2,44 µg/ml, kemudian pencahayaan biru yaitu 28,08; 26,94 dan 1,95 µg/ml dan terendah pada pencahayaan merah yaitu 27,03; 24,54 dan 1,93 µg/ml (Tabel 4).

Pelarut aseton menghasilkan kadar pigmen lebih tinggi karena pigmen yang bersifat non polar, yaitu : klorofil dan karotenoid lebih mudah larut dalam pelarut yang bersifat semi polar. Pigmen memiliki tingkat kelarutan yang rendah dalam pelarut metanol karena bersifat polar. Sehingga hasil serap pigmen dalam pelarut metanol lebih kecil dibandingkan dengan pelarut aseton.

Pigmen klorofil a dan b total pada pencahayaan merah lebih tinggi dibandingkan dengan pencahayaan biru dan putih. Pigmen karotenoid total lebih tinggi pada pencahayaan biru dibandingkan dengan pencahayaan merah dan putih. Kadar pigmen klorofil a, klorofil b, dan karotenoid total pada pencahayaan merah yaitu 48,28; 40,86;

dan 5,06 µg/ml pencahayaan biru yaitu 44,94; 39,36 dan 6,70 µg/ml dan pencahayaan putih yaitu 42,62; 36,95 dan 4,03 µg/ml (Tabel 5)

Hasil uji Anova dan Tukey pada pigmen total, klorofil a dan klorofil b menunjukkan bahwa pencahayaan putih berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan pencahayaan merah, sedangkan karotenoid menunjukkan bahwa pencahayaan putih tidak berbeda nyata ($P > 0,05$) terhadap pencahayaan merah dan biru.

Kadar pigmen klorofil a dan klorofil b total *T. chuii* tertinggi ada pada pemberian pencahayaan merah kemudian biru dan putih karena pencahayaan merah memiliki panjang gelombang 630 – 675 nm lebih banyak diserap oleh pigmen klorofil. Menurut Campbell (2000) klorofil a dan klorofil b sangat baik menyerap spektrum merah. Klorofil b memiliki panjang gelombang sebesar 630–648 nm dan daya serap terhadap intensitas cahaya lebih pendek dibandingkan dengan klorofil-a yang memiliki panjang gelombang sebesar 660–682 nm tetapi mendekati cahaya merah sehingga kadar klorofil a dan klorofil b total lebih tinggi.

Kadar karotenoid total yang tertinggi dicapai pada pemberian pencahayaan biru diikuti pencahayaan merah dan putih karena pada dasarnya pigmen karotenoid menyerap cahaya biru dengan panjang gelombang 450–475 nm (Kurniawan *et al.*, 2013). Karotenoid bertindak sebagai pigmen permanen cahaya untuk menyerap energi di kisaran 400–500 nm yang tidak dapat diserap oleh klorofil (Kojo, 2004).

Identifikasi pigmen dilakukan menggunakan KLT (Kromotografi Lapis Tipis) dengan silica gel sebagai fase diam dan fase geraknya adalah aseton : dietileter : heksana (2:3:6). Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan aseton mengandung 5 pigmen. Lapisan yang berada paling atas ataupun nilai R_f yang paling tinggi adalah pigmen karotenoid yang berwarna orange, diikuti lapisan yang berwarna abu-abu merupakan pigmen feofitin a. Pigmen feofitin a sering ditemukan pada proses pemisahan klorofil melalui proses ekstraksi, selanjutnya lapisan yang berwarna hijau adalah pigmen klorofil yaitu hijau muda (hijau kebiruan) klorofil a dan hijau tua (hijau kekuningan) klorofil b. Lapisan yang berada dibawah ataupun nilai R_f paling kecil adalah pigmen santofil dan berwarna kuning. (Tabel 6)

Aktivitas Antioksidan *T. Chuii*

Berdasarkan uji antioksidan ekstrak *T. chuii* diperoleh persamaan regresi linear sederhana yang ditunjukkan pada Gambar 2. Berdasarkan hasil tersebut, menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak semakin tinggi nilai persen inhibisinya. Menurut Rosahdi *et al.* (2015) aktivitas antioksidan (IC_{50}) 50 ppm tergolong kategori sangat kuat, 50–100 ppm kuat, 100–150 ppm sedang, 150–200 ppm lemah dan > 200 ppm tergolong kategori sangat lemah. Aktivitas antioksidan ekstrak *T. chuii* yang didapatkan tergolong rendah karena (IC_{50}) > 200 ppm (Tabel 7).

Tabel 3. Kadar Pigmen *T. Chuii* dari ekstrak metanol.

Perlakuan	Kadar Pigmen (µg/ml)		
	Klorofil a	Klorofil b	Karotenoid
Putih	14,41 ± 2,01	10,35 ± 2,38	1,59 ± 0,52
Merah	21,25 ± 0,57	16,32 ± 1,20	3,13 ± 0,39
Biru	16,86 ± 2,54	12,42 ± 3,06	4,75 ± 0,66

Tabel 4. Kadar Pigmen *T. Chuii* dari ekstrak aseton.

Perlakuan	Kadar Pigmen (µg/ml)		
	Klorofil a	Klorofil b	Karotenoid
Putih	28,21 ± 0,29	26,59 ± 4,64	2,44 ± 0,13
Merah	27,03 ± 1,19	24,54 ± 2,56	1,93 ± 0,09
Biru	28,08 ± 0,89	26,94 ± 4,72	1,95 ± 0,24

Tabel 5. Kadar Pigmen total *T. Chuii*.

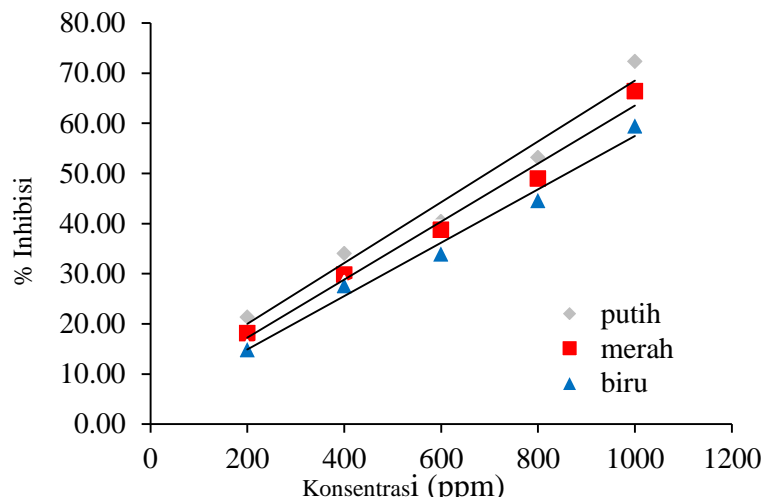
Perlakuan	Kadar Pigmen (µg/ml)		
	Klorofil a	Klorofil b	Karotenoid
Putih	42,62 ± 2,26	36,95 ± 2,02	4,03 ± 0,62
Merah	48,28 ± 1,71	40,86 ± 3,73	5,06 ± 0,29
Biru	44,94 ± 2,37	39,36 ± 5,85	6,70 ± 0,43

Tabel 6. Nilai R_f Pigmen *T. Chuii*

Perlakuan	Jumlah spot	R _f (metanol)	R _f (aseton)	Jenis Pigmen	Pustaka
Putih	5	0.23	0.30	Santofil	0.2 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015); 0.10 – 0.30 kuning (Heriyanto dan Heriyanto dan Limantara, 2006).
		0.51	0.53	Klorofil b	0.53 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015)
		0.61	0.62	Klorofil a	0.61 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ;0.64 – 72 hijau biru (Heriyanto dan Limantara, 2006).
		0.71	0.70	Feofitin a	0.75 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ;0,74 – 0.82 abu – abu (Heriyanto dan Limantara, 2006).
		0.9	0.93	Karotenoid	0.9 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ; 0.61 – 0,9 (Britton <i>et al.</i> , 1995)
Merah	5	0.28	0.48	Santofil	0.2 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ; 0.10 – 0.30 kuning (Heriyanto dan Limantara, 2006).
		0.58	0.72	Klorofil b	0.53 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015)
		0.66	0.79	Klorofil a	0.61 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ;0.64 – 72 hijau biru (Heriyanto dan Limantara, 2006).
		0.71	0.87	Feofitin a	0.75 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ;0,74 – 0.82 abu – abu (Heriyanto dan Limantara,2006).
		0.96	0.95	Karotenoid	0.9 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ; 0.61 – 0,9 (Britton <i>et al.</i> , 1995)
Biru	5	0.29	0.35	Santofil	0.2 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ; 0.10 – 0.30 kuning (Heriyanto dan Limantara, 2006).
		0.52	0.60	Klorofil b	0.53 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015)
		0.62	0.69	Klorofil a	0.61 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ;0.64 – 72 hijau biru (Heriyanto dan Limantara,2006).
		0.68	0.79	Feofitin a	0.75 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ;0,74 – 0.82 abu – abu (Heriyanto dan Limantara, 2006).
		0.93	0.95	Karotenoid	0.9 (Kondororik <i>et al.</i> , 2015) ; 0.61 – 0,9 (Britton <i>et al.</i> , 1995)

Tabel 7. Nilai IC₅₀ Ekstrak *T. chuii* dengan Pencahayaan Berbeda

No	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi		
		P	M	B
1	200	21.28	18.09	14.89
2	400	34.04	29.79	27.66
3	600	40.43	38.72	34.04
4	800	53.19	48.94	44.68
5	1000	72.34	66.38	59.57
IC ₅₀		695,176	765,811	859,862



Gambar 2. Hubungan antara Konsentrasi Ekstrak dan % Inhibisi

Aktivitas antioksidan dari ekstrak *T. Chuii* tergolong sangat lemah dapat disebabkan karena ekstrak yang diuji adalah ekstrak kasar yang senyawa antioksidannya belum murni. Ekstrak yang digunakan adalah dari serbuk kering. Proses pengeringan dapat mempengaruhi rusaknya senyawa antioksidan. Menurut Damar *et al.* (2014) sampel segar memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik karena memiliki tingkat kerusakan senyawa yang lebih kecil. Mikroalga *T. chuii* yang mengalami stress selama proses kultur juga dapat mempengaruhi hasil dari senyawa yang terkandung dan penyebab lemahnya aktivitas antioksidan (Yudiati *et al.*, 2011)

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan, bahwa pencahayaan yang berbeda tidak berpengaruh nyata ($P \geq 0,05$) terhadap laju pertumbuhan. Pencahayaan yang berbeda hanya berpengaruh nyata ($P < 0,05$) terhadap kandungan pigmen total *T. Chuii*, yaitu : klorofil a, dan b, sementara terhadap karotenoid tidak berbeda nyata ($P \geq 0,05$). Pencahayaan putih dan merah menghasilkan kandungan klorofil a dan b berbeda nyata ($P < 0,05$), tertinggi pada pencahayaan merah (klorofil a=48,28 $\mu\text{g/ml}$, b= 40,86 $\mu\text{g/ml}$). Aktivitas antioksidan ketiga ekstrak kering *T. Chuii* setelah pemberian pencahayaan berbeda (merah, putih, biru) tergolong sangat lemah ($IC_{50} > 200$ ppm).

DAFTAR PUSTAKA

Arkronrat, W., Deemark, P., & Oniam, V. 2016. Growth Performance and Proximate Composition of Mixed Culture of Marine

- Micoralgae (*Nannochloropsis* sp. & *Tetraselmis* sp.) with monocultures. *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 38(1):1-5
- Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenol oxidase in Beta vulgaris. *Plant Physiol.*, 2:1–15.
- Campbell, N., B.R Jane, & G.M Lawrence. 2000. Biologi. Erlangga, Jakarta.
- Damar, A.R., Runtuwene, M.R.J., & Silvia, D. 2014. Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (*Melanolepsis multiglandulosa* Reinch). *Jurnal Ilmiah Farmasi*. 3(4):11–21.
- Heriyanto & Limantara. 2006. Komposisi dan Kandungan Pigmen Utama Tumbuhan Taliputri *Cuscuta australis* R.Br. an *Cassytha filiformis* L. *Makara Sains*, 10(2):69-75.
- Kojo, S. 2004. Vitamin C: Basic Metabolism and Its Function as an Index of Oxidative Stress. *Curr. Med. Chem.* 11:1041–1064.
- Kurniawan, M.P., Ma'ruf, W.F. and Agustini, T.W., 2014. Pengaruh Penambahan $MgCO_3$ Dan NH_4CO_3 Dengan Perbedaan Pencahayaan Terhadap Stabilitas Pigmen Klorofil-a Mikroalga *Chlorella Vulgaris*. *J.Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 3(2):25-33.
- Kurniawan, M., Izzati, M. & Nurchayati, Y. 2010. Kandungan Klorofil, Karotenoid, dan Vitamin C pada Beberapa Spesies Tumbuhan Akuatik. *Buletin Anatomi dan Fisiologi*, 18(1):1–14.
- Kondororik, F., Martanto, M. & Susanto, A.B. 2015. Identifikasi Komposisi Pigmen, Isolasi, dan Aktivitas Antioksidan β Karoten pada Rumput Laut Merah *Gracilaria gigas* Hasil Budidaya. [Tesis]. Magister Biologi. Universitas Kristen Satya Wacana.

- Lichtentaler, H.K & Wellburn, A.R. 1983. Determinations of Total Carotenoids and Chlorophylls a and b Leaf Extracts in Different Solvent. *Biochem. Soc. Trans.* 5:591-592
- Maligan, J.M., Marditia, A.P. & Putri, W.D.R 2015. Analisis Senyawa Bioaktif Ekstrak Mikroalga Laut *Tetraselmis Chuii* sebagai Sumber Antioksidan Alami. *J. Rekapangan*, 9(2):1-10.
- Mohamed, A. & Omar, M.W. 2012. Responses of *Tetraselmis* sp. And *Nannochloropsis* sp. Isolated from Penang National Park Coastal Waters, Malaysia, to the Combined Influences of Salinity, Light and Nitrogen Limitation. *Int. Conf. Chem. Ecol. Environ. Sci.*
- Richmond, A. 2004. Handbook of Microalgal Culture : Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Science.
- Rosahdi T. D., Susanti, Y. & Suhendar, D. 2015. Uji Aktivitas Daya Antioksidan Biopigmen Pada Fraksi Aseton Dari Mikroalga *Chlorella Vulgaris*. *J. Iistek* 9 (1):1-14.
- Sani, R.N., Nisa, F.C., Andriani & Maligan, J.M. 2014. Analisis Rendemen dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut *Tetraselmis chuii*. *Pangan dan Agroindustri*. 2(2):121-126.
- Widowati, I., M. Zainuri, H. P. Kusumaningrum, R. Susilowati, Y. Hardivillier, V. Leignel, N. Bourgougnon & Jean-Luc Mouget. 2017. Antioxidant activity of three microalgae *Dunaliella salina*, *Tetraselmis chuii* and *Isochrysis galbana* clone Tahiti. *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 55(012067): 1-6.
- Yudiati, E., Sedjati, S., Sunarsih, & Agustian, R. 2011. Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Ekstrak Metanol dan Pigmen Kasar *Spirulina* sp. *Ind. J. Mar. Sci.* 16(4):187-192.