

KOMPOSISI KIMIA DAN KANDUNGAN PIGMEN *Spirulina fusiformis* PADA UMUR PANEN YANG BERBEDA DALAM MEDIA PUPUK

Chemical Composition and Pigment Content of Spirulina fusiformis on the Different Harvesting Age in Fertilized Media

Iriani Setyaningsih*, Andika Tri Saputra, Uju

Departemen Teknologi Hasil Perairan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor

*Korespondensi: Jalan Lingkar Akademik Kampus IPB Dramaga Kab Bogor 16680 Telp 0251 8622915 Fax 0251 8622916 email: iriani25@gmail.com

Abstract

Spirulina fusiformis is bluegreen alga which grows in freshwater. The aims of the research were to observe the growth curve, chemical composition and pigment content of *S. fusiformis* cultivated in fertilized media and harvested on different times (18 and 32 days). *S. fusiformis* cultivated in fertilized media had five phases of growth. The end of exponential and stationary phases were achieved on days 15 and 24, respectively. The *S. fusiformis* harvested on 18 days contained 52.72% protein, 17.19% carbohydrate, 8.47% fat, 6.24% ash, 5.5% phycocyanin, and 0.47% chlorophyll, while harvested on 32 days contained 55.22% protein, 21.32% carbohydrate, 8.67% fat, 9.57% ash, 4.68% phycocyanin, and 0.43% chlorophyll. In this study, *S. fusiformis* contained 17 amino acids, 9 of them are essential amino acids.

Keywords: *Spirulina fusiformis*, fertilized, chemical composition, harvesting age, pigment

Abstrak

Spirulina fusiformis termasuk alga biru yang hidup di perairan tawar. Penelitian ini bertujuan mengetahui kurva pertumbuhan, komposisi kimia dan kandungan pigmen dari *S. fusiformis* yang dikultivasi dalam media pupuk serta dipanen pada umur yang berbeda (18 dan 32 hari). Kultur *S. fusiformis* dalam media pupuk mengalami lima fase pertumbuhan. Akhir fase logaritmik dan stasioner dicapai berturut-turut pada hari ke 15 dan 24. *S. fusiformis* yang ditumbuhkan dalam media pupuk dan dipanen pada umur 18 hari mengandung protein 52,72%, karbohidrat 17,19%, lemak 8,47%, abu 6,24%, fikosianin 5,5%, klorofil 0,47%, sedangkan yang dipanen pada umur 32 hari mengandung protein 55,22%, karbohidrat 21,32%, lemak 8,67%, abu 9,57%, fikosianin 4,68% dan klorofil 0,43%. *S. fusiformis* mengandung 17 asam amino, 9 diantaranya merupakan asam amino esensial.

Kata kunci: *Spirulina fusiformis*, komposisi kimia, umur panen, pupuk, pigmen

PENDAHULUAN

Mikroalga pertama kali dimanfaatkan oleh bangsa China sejak dua ribu tahun lalu. Mereka memanfaatkan Nostoc sebagai bahan pangan untuk menghadapi bencana kelaparan (Spolaore *et al.* 2006). Mikroalga memiliki zat gizi seperti protein dengan komposisi asam amino yang seimbang, lemak, asam lemak tak jenuh, beta-karoten, berbagai jenis vitamin, mineral serta mengandung biopigmen (Mishra *et al.* 2008) yang dapat dijadikan sebagai bahan pewarna alami. *Spirulina* merupakan mikroalga yang dapat memproduksi cyanocobalamine, pigmen

antioksidan antara lain karoten, tokoferol, asam γ -linolenat (Belay *et al.* 1996).

Spirulina memiliki kandungan biopigmen fikosianin lebih tinggi daripada tanaman lain. Fikosianin mempunyai kasiat dalam kesehatan antara lain menghambat pertumbuhan tumor (Liu *et al.* 2000). Setiap miligram fikosianin (pigmen biru) memiliki harga antara 6-17 US\$ (Spolaore 2006). *Spirulina platensis* juga memiliki aktivitas antimikrobia terhadap *Klebsiella pneumonia*, *Shigella shigae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, dan *Salmonella typhi* (Mala *et al.* 2009).

Fikosianin dari *Spirulina* juga dapat menurunkan kemampuan hidup EACC (Ehrlich Arcites Carcinoma Cell) (Abd El-Baky 2003).

Spirulina menjadi salah satu mikroalga yang sangat menjanjikan dikembangkan di Indonesia terkait dengan potensi mikroalga ini cukup besar untuk dimanfaatkan sebagai bahan pangan dan sumber pewarna alami. *Spirulina* merupakan salah satu mikroalga yang dapat digunakan sebagai bahan pangan maupun pakan. Colla *et al.* (2004) melaporkan bahwa pengolahan *Spirulina* yang dijual dalam bentuk kapsul atau di dalam makanan seperti aneka minuman dan pasta telah menunjukkan khasiat pengobatan dalam perlakuan kondisi seperti hiperkolesterolemia dan aterosklerosis.

Selama ini penelitian *Spirulina* sebagian besar menggunakan *Spirulina platensis* yang hidup di laut dalam media Zarrouk maupun Walne yang relatif mahal, hal ini tentunya akan sangat berpengaruh pada prospek pengembangan kultur *Spirulina* di Indonesia dengan skala yang lebih besar. Pada penelitian ini digunakan *Spirulina fusiformis*, yaitu jenis *Spirulina* yang hidup di perairan tawar. Media pertumbuhannya digunakan media yang lebih murah, yaitu media pupuk. Dao-lun (2006) menyatakan bahwa material anorganik seperti nitrogen (N), fosfor (P) dan kalium (K) merupakan substansi yang baik bagi pertumbuhan *Spirulina*. Setyaningsih *et al.* (2009) melaporkan bahwa mikroalga laut *Chaetoceros gracilis* yang ditumbuhkan dalam media pupuk NPSi dapat menghasilkan antibakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 13091, *Vibrio harveyi* and *Escherichia coli* ATCC 25922.

Beberapa faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan kandungan kimiawi mikroalga antara lain umur, suhu, intensitas cahaya, nutrisi. *Spirulina* ada yang hidup di air laut dan *Spirulina* yang hidup di perairan tawar. Informasi mengenai komposisi kimia dan biopigmen dari *Spirulina* pada umur panen yang berbeda masih sangat terbatas, khususnya *Spirulina* perairan tawar, sehingga perlu dilakukan penelitian mengenai komposisi kimia dan pigmen *S. fusiformis* (perairan tawar) pada

umur panen berbeda yang dikultivasi di dalam media pupuk. Hasil penelitian ini diharapkan dapat mengetahui pengaruh umur panen terhadap komposisi kimia dan pigmen, sehingga *Spirulina* perairan tawar dapat dikembangkan, karena dapat menggunakan air tawar dan pupuk untuk media pertumbuhannya.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menentukan kurva pertumbuhan *S. fusiformis* yang dikultivasi pada media pupuk, menentukan komposisi kimia *S. fusiformis* meliputi protein, lemak, karbohidrat, kadar abu serta profil asam aminonya, serta kandungan pigmennya pada umur panen yang berbeda.

MATERIAL DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain mikroalga perairan tawar *S. fusiformis* yang diperoleh dari LIPI Cibinong. Bahan lainnya meliputi NaHCO_3 , pupuk NPK, TSP, NaCl serta *trace element*.

Alat-alat yang digunakan meliputi akuarium, toples kaca, neraca analitik, *tube light* (TL) Philips 40 watt, pH meter, lux meter, *High Performance Liquid Chromatography* (Shimadzu) kolom Pico tag 3,9 x150 mm, fase gerak asetonitril 60% dan buffer natrium asetat, Spektrofotometer Shimadzu spektronik 20, spektrofotometer UV-Vis 2800, refrigerator dan alat-alat gelas lainnya yang diperlukan di laboratorium.

Metode Penelitian

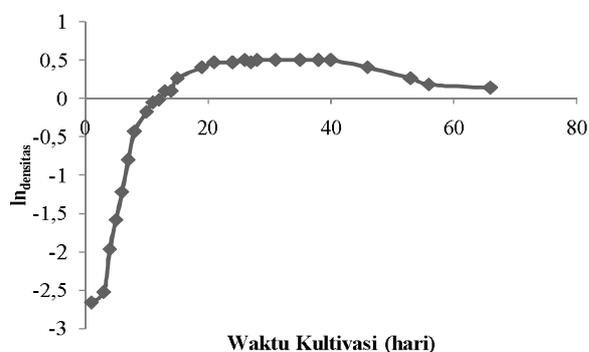
Penelitian ini dilakukan dalam beberapa tahap, yaitu: 1) kultivasi *S. fusiformis* dalam media pupuk (NPK, TSP ditambah dengan NaHCO_3 , NaCl dan *trace element*), dengan intensitas cahaya 3250 lux, pH 10, suhu 30°C. 2) Penentuan kurva pertumbuhan yang dilakukan dengan cara sampling setiap hari untuk diukur kerapatan densitasnya, lalu diplotkan dalam kurva pertumbuhan. 3) Pemanenan biomasa dilakukan dengan cara penyaringan kultur menggunakan kain nilon. Pemanenan biomasa dilakukan pada umur kultur 18 hari (fase logaritmik) dan 32 hari (fase stasioner). Analisis dilakukan terhadap biomasa kering *S. fusiformis* yang meliputi: total protein (Lowry *et al.* 1951),

total lemak dengan metode Folch, karbohidrat dengan metode fenolic-sulfur, kadar abu, asam amino menggunakan HPLC Shimadzu (kolom Pico tag 3,9x150 mm, fase gerak asetonitril 60% dan buffer natrium asetat), kandungan pigmen fikosianin (Minkova *et al.* 2003; Doke 2005), kandungan klorofil (Chrismadha 1993). Analisis data dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap mengacu pada Steel dan Torrie (1989) dan secara deskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kultur *S. fusiformis*

Salah satu parameter untuk melihat pertumbuhan adalah kepadatan sel yang ditandai dengan perubahan warna kultur. Pada penelitian ini terjadi perubahan intensitas warna hijau pada kultur. Pertumbuhan alga dalam kultur dapat ditandai dengan bertambah besarnya ukuran sel atau bertambahnya jumlah sel. Kultur *S. fusiformis* pada tahap awal berwarna hijau muda jernih. Setelah beberapa hari kultur, warna suspensi berubah menjadi lebih tua. Hasil pengukuran rapat optis selama periode kultur didapatkan bentuk kurva pertumbuhan *S. fusiformis* yang disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Kurva pertumbuhan *S. fusiformis*

Kultur *S. fusiformis* mengalami lima fase pertumbuhan. Fase pertama adalah fase lag yang dicapai pada hari ke-1 sampai 3. Fase kedua adalah fase eksponensial atau logaritmik. Fase ini diawali pada hari ke-3 sampai 15. Fase deklinasi terjadi pada hari ke-15 sampai 24. Fase stasioner pada kultur ini terjadi pada hari ke-24 sampai 40. Fase kematian dimulai pada hari ke-41.

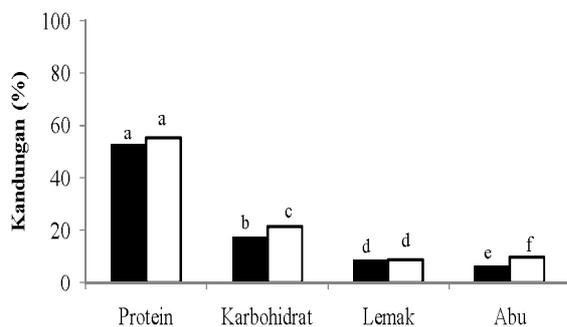
Sel-sel *S. fusiformis* mengalami adaptasi dengan kondisi lingkungan kultur pada fase lag. *S. fusiformis* mengalami pertumbuhan yang cepat serta sintesis komponen biokimia pada fase logaritmik. Fogg dan Thake (1987) menyatakan pada fase ini percepatan pertumbuhan menjadi konstan. Fase deklinasi terjadi dengan berakhirnya fase logaritmik. Pada fase ini masih terjadi pertumbuhan dengan laju yang lebih lambat seiring dengan berkurangnya nutrisi yang tersedia di lingkungan. Fase stasioner merupakan akhir dari produksi biomassa sel. Pada fase ini, konsentrasi maksimum biomassa tercapai. Fase kematian dapat dilihat dengan pertumbuhan *Spirulina* yang memiliki nilai slope negatif. *Spirulina* pada tahap ini, mengalami penurunan kepadatan sel karena mengalami kematian dan sel mengalami lisis. Proses lisis terjadi karena perbedaan tekanan osmotik di dalam sel dengan lingkungan. Sel *Spirulina* kehilangan kemampuan untuk mempertahankan cairan intraseluler seiring dengan laju degradasi komponen biokimia di dalam sel. Hal ini ditandai dengan sel yang tenggelam di dasar akuarium berwarna hijau pucat.

Pemanenan dan Pengeringan Biomassa

Kultur *S. fusiformis* dipanen pada umur 18 yang mewakili fase logaritmik dan 32 hari yang mewakili fase stasioner untuk mendapatkan biomasanya. Sebanyak 4 L kultur *Spirulina fusiformis* umur 18 hari dan 32 hari berturut-turut dihasilkan biomassa basah sebesar 76,63 g dan 80,24 g. Biomassa kering yang dihasilkan pada umur panen 18 hari dan 32 hari adalah sebesar 4,68 g dan 4,94 g dengan kadar air masing-masing sebesar 7,27% dan 9,89%. Rendemen biomassa sel masing-masing sebesar 1,17 g/L dan 1,24 g/L. Pertambahan biomassa sel pada umur 32 hari menunjukkan bahwa setelah umur 18 hari *Spirulina* masih mengalami pertumbuhan. Kondisi lingkungan pada umur 32 hari masih mencukupi untuk pertumbuhan, karena intensitas cahaya, nilai pH, sumber karbon masih dapat menunjang terjadinya pertumbuhan *S. fusiformis*. Pada umur 32 hari termasuk fase stasioner yang merupakan akhir dari produksi biomassa sel.

Komposisi Kimia *S. fusiformis* pada Dua Fase Pertumbuhan yang Berbeda

S. fusiformis pada umur panen 18 hari memiliki kandungan protein sebesar 52,72% (bk), karbohidrat sebesar 17,19% (bk), lemak sebesar 8,47% (bk) serta kadar abu sebesar 6,24% (bk). *Spirulina fusiformis* yang dipanen pada umur 32 hari memiliki kandungan protein sebesar 55,22% (bk), karbohidrat sebesar 21,32% (bk), lemak sebesar 8,67% (bk) serta kadar abu sebesar 9,57% (bk). Komposisi kimia *S. fusiformis* disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2 Komposisi kimia *S. fusiformis* pada umur panen 18 (■) dan 32 hari (□). Angka-angka pada diagram batang yang diikuti dengan huruf superscript yang sama (a, d) menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata ($P>0,05$).

Kandungan protein *S. fusiformis* pada umur panen 18 hari (52,72%) tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan umur panen 32 hari (55,22%). Hasil penelitian Rafiqul (2005) menunjukkan bahwa *S. fusiformis* yang dikultivasi dengan media Zarrouk dan dipanen pada umur 20 hari memiliki kandungan protein sebesar 61,7%.

Kandungan protein *S. fusiformis* yang dikultivasi dalam media pupuk, yaitu 52,72% (umur 18 hari) dan 55,22% (umur 32 hari) lebih kecil dibandingkan hasil penelitian Rafiqul (2005) dan diduga karena perbedaan media pertumbuhan yang digunakan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *S. fusiformis* yang dikultivasi dalam media pupuk masih menghasilkan protein tinggi.

Perbedaan kandungan protein pada *Spirulina* sangat dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya. Hu (2004) mengemukakan bahwa faktor-faktor lingkungan seperti cahaya, suhu, nutrisi dan

salinitas tidak hanya berpengaruh terhadap fotosintesis dan produktivitas biomassa sel tetapi juga mempengaruhi bentuk, aliran aktivitas metabolisme seluler yang berdampak pada dinamika komposisi sel.

Penggunaan nutrisi yang berbeda akan berpengaruh terhadap kandungan kimianya. Sumber nitrogen yang digunakan pada penelitian ini adalah pupuk NPK, sedangkan media Zarrouk menggunakan nitrat sebagai sumber nitrogennya. Nitrogen merupakan senyawa esensial sebagai *growth-associate factor* dan dibutuhkan untuk proses sintesis protein. Nitrat biasa digunakan sebagai sumber nitrogen pada kultivasi *Spirulina* sp. Stanca dan Popovici (1996) menunjukkan penggunaan urea sebagai sumber nitrogen untuk kultivasi *S. platensis* menyebabkan peningkatan produksi biomassa sel dan juga kandungan klorofil. Urea secara spontan terhidrolisis menjadi ammonium di dalam media alkali dan mudah diasimilasi oleh *Spirulina* (Danesi *et al.* 2002). Hasil penelitian Choi *et al.* (2003) menunjukkan bahwa *S. platensis* memiliki biomassa kering tertinggi pada kultur yang mengandung ammonium, sedangkan kandungan total asam amino tertinggi terdapat pada kultur yang mengandung urea. Konsentrasi klorofil a tertinggi terdapat pada kultur yang menggunakan nitrat sebagai sumber nitrogen.

Kandungan lemak *S. fusiformis* yang dikultivasi dalam media pupuk dan dipanen pada umur 18 hari (8,47%) tidak berbeda nyata ($P>0,05$) dengan *S. fusiformis* pada umur panen 32 hari (8,67%). Hasil penelitian Rafiqul (2005) menunjukkan bahwa *S. fusiformis* yang dikultivasi dengan media Zarrouk dan dipanen pada umur 20 hari memiliki kandungan lemak sebesar 8,2%. Hal ini menunjukkan bahwa *S. fusiformis* yang ditumbuhkan dalam media pupuk memiliki kandungan lemak yang hampir sama dengan yang ditumbuhkan dalam media Zarrouk. Berkaitan dengan penelitian ini Rafiqul (2005) dan Richmond (1988) menyatakan bahwa kandungan lemak *Spirulina* sangat bergantung pada jenis dan kondisi lingkungan. *Spirulina* merupakan tipikal cyanobacteria yang rendah akan kandungan lemak, hanya mengandung 6-13% lemak dan 25-

60% dari total lemak merupakan asam lemak tidak jenuh.

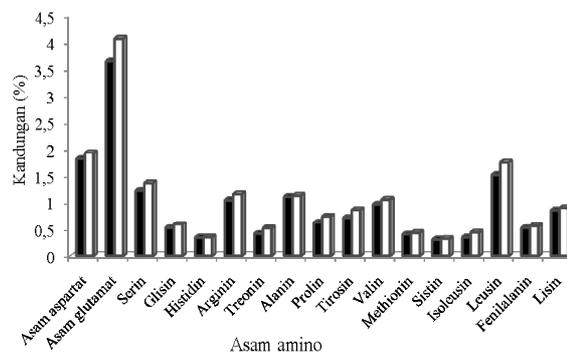
Kandungan karbohidrat *S. fusiformis* pada umur panen 32 hari (21,32%) secara nyata ($P < 0,05$) lebih tinggi jika dibandingkan dengan *S. fusiformis* pada umur panen 18 hari (17,19%). Perbedaan kandungan karbohidrat berkaitan erat dengan kondisi lingkungan, salah satunya adalah konsentrasi nutrisi dalam medium pertumbuhan. Kandungan nutrisi khususnya nitrogen (N) dan fosfor (P) pada umur 32 hari diduga telah mengalami penurunan. Fotosintesis terus berlanjut meskipun dengan laju yang terus menurun ketika nitrogen dalam sel turun hingga di bawah nilai ambang batasnya. Hu (2004) menyatakan bahwa dalam satu genus *Chlorella*, beberapa strain ditemukan mengalami peningkatan akumulasi pati pada kondisi kekurangan nitrogen, sedangkan beberapa strain yang lain mengalami akumulasi lipid.

Kadar abu *S. fusiformis* pada umur panen 18 hari (6,24%) berbeda nyata ($P < 0,05$) dengan yang dipanen pada umur 32 hari (9,57%). Kadar abu *S. fusiformis* pada umur panen 18 hari tidak jauh berbeda dengan hasil penelitian Dao-lun (2006), yang menunjukkan bahwa *S. platensis* yang dikultivasi menggunakan media Zarrouk dan dipanen pada umur 14 hari mengandung 6,5% abu. Perbedaan antara kadar abu *S. platensis* (perairan laut) dan *S. fusiformis* (perairan tawar) pada kedua penelitian ini diduga karena media yang digunakan berbeda dan komponen nutrisi seperti garam dan karbonat dari medium terbawa pada biomassa mikroalga. Richmond (1988) mengemukakan bahwa biomassa alga yang tidak dibilas dengan cukup air asam untuk membersihkan senyawa karbonat dapat mengandung kadar abu hingga mencapai 25% dan kandungan protein dapat menurun menjadi 50% atau kurang.

Profil Asam Amino *S. fusiformis*

Kandungan protein dari *S. fusiformis* yang dikultivasi dalam media pupuk relatif besar, yaitu antara 52,72% (umur 18 hari) dan 55,22% (umur 32 hari). Hasil analisis asam amino menggunakan metode hidrolisis asam dengan HPLC menunjukkan bahwa *S. fusiformis*

mengandung tujuh belas asam amino baik pada umur panen 18 hari maupun pada umur panen 32 hari. Hasil analisis asam amino *S. fusiformis* pada umur panen 18 hari dan 32 hari disajikan pada Gambar 3. Asam amino yang mendominasi, yaitu asam aspartat, asam glutamat, serin, arginin, alanin, valin, leusin.



Gambar 3 Profil asam amino dari *S. fusiformis* yang dikultivasi dalam media pupuk dengan umur panen 18 (■) dan 32 hari (□).

Asam amino *S. fusiformis* terdiri atas sembilan asam amino esensial dan delapan asam amino non esensial. Asam amino esensial yang terkandung di dalamnya yaitu: lisin, leusin, isoleusin, treonin, metionin, valin, fenilalanin, histidin, dan arginin, sedangkan asam amino non esensial yang terdapat pada *S. fusiformis* adalah asam aspartat, asam glutamat, glisin, serin, alanin, prolin, tirosin dan sistin. Asam amino esensial merupakan asam amino yang penting bagi tubuh dan harus diperoleh dari luar tubuh (makanan) karena secara alami tubuh manusia tidak dapat mensintesisnya.

Komposisi asam amino *S. fusiformis* yang dikultivasi dalam media pupuk hampir sama dengan *Spirulina* yang diproduksi di Mexico. Richmond (1988) menyatakan bahwa *Spirulina* yang diproduksi di Mexico mengandung tujuh belas asam amino ditambah dengan asam amino triptofan. Hampir semua jenis asam amino esensial pada *S. fusiformis* dianalisis kecuali triptofan, karena diduga mengalami kerusakan pada saat hidrolisis asam. Untuk memperoleh asam amino triptofan, analisis asam amino harus dilakukan dengan proses hidrolisis basa.

Umur panen tidak mempengaruhi jenis asam amino tetapi berpengaruh terhadap jumlahnya.

Kandungan asam amino *S. fusiformis* pada umur panen 32 hari memiliki jumlah yang lebih besar dibandingkan pada umur panen 18 hari. Kandungan total asam amino *S. fusiformis* pada umur panen 18 hari dan 32 hari masing-masing sebesar 163,3 mg/g dan 181,1 mg/g berat kering. Kandungan asam amino bervariasi tergantung pada sumber nitrogen yang digunakan dalam medium pertumbuhan. Hasil penelitian Choi *et al.* (2003) menunjukkan bahwa kandungan total asam amino *Spirulina maxima* yang dipanen pada umur 30 hari dalam media yang mengandung urea memiliki hasil tertinggi (173,9 mg/g) dibandingkan dengan kultur menggunakan sumber nitrogen ammonium, nitrat dan juga nitrit.

Kandungan pigmen *S. fusiformis* pada Dua Fase Pertumbuhan yang Berbeda

Kandungan fikosianin *S. fusiformis* yang dikultivasi pada media pupuk dan dipanen pada umur panen 18 hari sebesar 5,5%, sedangkan pada umur panen 32 hari sebesar 4,68%. Kandungan klorofil pada umur panen 18 hari sebesar 0,47%, sedangkan pada umur panen 32 hari sebesar 0,43%. Kandungan pigmen fikosianin dan klorofil *S. fusiformis* pada umur panen 18 hari lebih tinggi jika dibandingkan dengan klorofil pada umur panen 32 hari. Penurunan yang terjadi pada umur panen 32 hari diduga karena konsentrasi senyawa yang dibutuhkan dalam proses sintesis klorofil mengalami penurunan diantaranya senyawa nitrogen dan fosfor yang terkandung di dalam media pertumbuhan. Richmond (1988) menyatakan bahwa fikosianin dapat bertindak sebagai material penyimpan nitrogen. Pada saat kondisi nitrogen melimpah, selain digunakan untuk pertumbuhan *Spirulina* nitrogen disimpan dalam bentuk fikosianin

KESIMPULAN

S. fusiformis dapat tumbuh dengan baik pada media pupuk dan mengalami lima fase pertumbuhan. Kandungan protein dan lemak *S. fusiformis* pada umur panen 18 tidak berbeda nyata dengan umur 32 hari, namun kandungan karbohidrat dan abu berbeda nyata. *S. fusiformis* mengandung 17 asam amino, 9 diantaranya merupakan asam amino esensial. Kadar fikosianin

dan klorofil pada umur panen 18 hari (5,5% dan 0,47%) lebih tinggi dibanding pada umur 32 hari (4,68% dan 0,43%).

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Baky, HH. 2003. Over Production of Phycocyanin Pigment in Blue Green Alga *Spirulina* sp. and It's Inhibitory Effect on Growth of Ehrlich Ascites Carcinoma Cells. *Journal of Medical Science* 3(4):314-324.
- Belay A, Kat T, Ota Y. 1996. *Spirulina* (Arthrospira): potential as an animal feed supplement. *Journal Applied Phycology* 8:303-311
- Chrismadha T. 1993. Growth and lipid production of *Phaeodactylum tricornutum* bohlin in a tubular-photobioreactor. [Tesis]. Perth: Murdoch University.
- Choi GG, Bae MS, Ahn CY, Oh HM. 2003. Induction of Axenic Culture of Arthrospira (*Spirulina*) *platensis* based on Antibiotic Sensitivity of Contaminating Bacteria. *Journal of Biotechnology Letter* 30: 87-92.
- Colla LM, Bertolin TE, Costa JAV. 2004. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. *Z. Naturforsch* 59c: 55-59.
- Danesi EDG, Rangel Yagui CO, Carvalho JCM, Sato S. 2002. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. *Biomass Bioenerg.* 23: 261-269
- Dao-lun F, Zu-cheng W. 2006. Culture of *Spirulina platensis* in human urine for biomass production and O₂ evolution. *Journal of Zhejiang University* 7(1):34-37
- Doke JM. 2005. An improved and efficient method for the extraction of phycocyanin from *Spirulina* sp. *Journal of food Engineering* 1(5). Article 2.
- Fogg GE, Thake B. 1987. *Algae Culture and Phytoplankton Ecology*. Second edition. London: The University of Winconsin Press.
- Hu Q. 2004. Environmental effects on cell composition. Di dalam: Richmond A (Ed). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Science*. Oxford: Blackwell Science Publishing. Hal 83-93.
- Liu Y, Lizhi X, Cheng N, Lin L, Zhang C. 2000. Inhibitory effect of phycocyanin from *Spirulina platensis* on the growth of human leukemia K562 cell. *Applied Phycology* 12:125-130.
- Lowry HO, Rosenbrough, NJ, Farr AL, Randall RJ. 1951. Protein Measurement with the Folin Phenol Reagent. *Journal of Biology and Chemistry*. 193:265-275.
- Mala R, Sarojini M, Saravanbabu S, Umadevi G. 2009. Screening for antimicrobial activity of crude extracts of *Spirulina platensis*. *Journal of Cell and Tissue Research* 9(3):1951-1955

- Minkova KM, Tchernov AA, Tchorbadijeva MI, Fournadjieva ST, Antova RE, Busheva M.Ch , 2003. Purification of C-Phycocyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*. *J Biotech*. 102 (2003): 55-59.
- Mishra SK., Anupama S, Sandhya M. 2008. Effect preservatives for food grade C-PC from *Spirulina platensis*. *Journal of Process Biochemistry* 43: 339-345.
- Rafiqul IM, Jalal KCA, Alam MZ. 2005. Environmental Factors for Optimisation of Spirulina Biomass in Laboratory Culture. *Journal of Biotechnology* 4(1): 19-22
- Richmond A. 1988. Spirulina. Di dalam: Borowitzka MA, Borowitzka LJ (Ed) *Microalgae Biotechnology*. England: Cambridge. Hal. 85-121.
- Setyaningsih I, Hardjito L, Sondita MF, Monintja RD, Bintang M. 2009. Pola pertumbuhan *Chaetoceros gracilis* dan produksi antibakteri. *Jurnal Kelautan Nasional*. Edisi khusus Vol.2
- Spolaroe P, Joanis CC, Duran E, Isambert A. 2006. Comercial Application of Microalgae Review. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 101 (2): 87-96.
- Stanca D, Popovici E. 1996. Urea as nitrogen source in modified Zarrouk medium. *Journal of Biology Veg*. 41:25-31
- Steel RGD, Torrie JH. 1989. *Principles and Procedures of Statistics*. Soemantri B, terjemahan; Jakarta: PT. Gramedia Pustaka Utama