

EKSTRAKSI DAN BIOAKTIVITAS ANTIOKSIDAN PIGMEN FIKOERITRIN DARI RUMPUT LAUT MERAH *Halymenia* sp.

Extraction and Antioxidant Bioactivity of Phycoerythrin Pigment from the Red Seaweed Halymenia sp.

Tias Suci Lailani^{1*}, Ifah Munifah², dan Hermanto¹

¹ Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jl. Ir. H. Juanda No.95 Ciputat, Indonesia

² Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan
Jl. KS Tubun Petamburan VI, Jakarta, Indonesia

*Korespondensi Penulis: lailanitias12@gmail.com

Diterima: 20 Januari 2020; Direvisi: 20 Maret 2020; Disetujui: 17 Juli 2020

ABSTRAK

Fikoeritrin adalah pigmen dari rumput laut merah *Halymenia* sp. dengan aktivitas antioksidan yang potensial untuk dikembangkan dalam bidang nutrasetikal. Ekstraksi fikoeritrin dapat dilakukan dengan berbagai jenis pelarut. Namun, penggunaan pelarut yang tidak sesuai dapat berdampak terhadap rendemen, kemurnian, dan juga bioaktivitas ekstrak fikoeritrin. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan jenis pelarut dan durasi waktu ekstraksi (secara maserasi) yang tepat sehingga menghasilkan ekstrak dengan rendemen, kemurnian, dan daya antioksidan fikoeritrin terbaik. Ekstraksi dilakukan menggunakan tiga jenis pelarut (akuabides; buffer fosfat pH 6,8; dan aseton 80%) dengan variasi waktu maserasi (24, 48, 72, dan 96 jam). Spektrofotometri Ultraviolet-Visibel (UV-Vis) dipergunakan dalam identifikasi fikoeritrin, sementara *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP) merupakan metode dalam telaah daya antioksidan ekstrak. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah rendemen ekstrak (w/w segar) dari ketiga pelarut, yaitu 1,76% (akuabides); 0,91% (aseton 80%); dan 2,91% (buffer fosfat pH 6,8). Selain itu, waktu ekstraksi juga menyebabkan perbedaan jumlah rendemen, yaitu 1,72% (24 jam); 1,51% mg/mL (48 jam); 1,37% (72 jam); dan 1,43% (96 jam). Hasil ini menunjukkan bahwa pelarut buffer fosfat dengan durasi waktu maserasi 24 jam adalah metode yang terbaik untuk mendapatkan rendemen fikoeritrin tertinggi dari rumput laut merah *Halymenia* sp. Aktivitas antioksidan dari ekstrak buffer fosfat ini terdeteksi sebesar 3,14 mg ekuivalen asam askorbat/100 g ekstrak pada konsentrasi 10 mg/mL.

KATA KUNCI : alga merah, antioksidan, ekstraksi, fikoeritrin, *Halymenia* sp

ABSTRACT

Phycoerythrin is a pigment from red seaweed Halymenia sp., with antioxidant activity which is prospective in nutraceutical development. There are several solvents that could be used in the extraction of phycoerythrin. However, the use of inappropriate solvents may impact the yield, purity, and bioactivity of phycoerythrin extract. Therefore, this study aimed to obtain the type of solvent and the duration of extraction (with maceration technique) to produce the highest yield, purity, and antioxidant activity of phycoerythrin extract. Extraction was carried out using three types of solvents (aquabidest, phosphate buffer pH 6.8, and acetone 80%) with variations in extraction time (24, 48, 72, and 96 hours). Spectrophotometric Ultraviolet-Visible (UV-Vis) was used to identify the phycoerythrin, and Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) was applied to analyze the antioxidant activity in the extract. The results showed that there were differences in the amount of extract yield (w/w fresh) from three solvents, which was 1.77% (aquabidest), 0.91% (acetone 80%), and 2.91% (phosphate buffer pH 6.8). Moreover, extraction duration was also affecting the amount of yield, which was 1.78% (24 hours), 1.51% mg/mL (48 hours), 1.37% (72 hours), and 1.43% (96 hours). These results indicated that the phosphate buffer solvent with a 24-hour extraction duration was the best method to get the highest yield of phycoerythrin from the red seaweed Halymenia sp. The antioxidant activity from the phosphate buffer extract was detected up to 3.14 mg equivalent ascorbic acid /100 g extract at a concentration of 10 mg/mL.

KEYWORDS: red seaweed, antioxidant, extraction, phycoerythrin, *Halymenia* sp.

PENDAHULUAN

Halymenia sp. merupakan rumput laut merah yang mengandung berbagai senyawa potensial di bidang nutrasetikal, contohnya sebagai antioksidan. Protein, polisakarida, fikobiliprotein, dan pigmen, adalah beberapa contoh jenis senyawa yang potensial tersebut (D'Alessandro & Antoniosi, 2016; Guillard et al., 2015). Pigmen penting yang dapat bersifat sebagai antioksidan dari biota ini adalah senyawa fotosintesis fikoeitrin (Jung et al., 2016; Pugalendren, Sarangam, & Rengasamy, 2017; Punampalam, Khoo, & Sit, 2018; Sethikumar et al., 2013; Sharmila, Santhosh, Hemalatha, Venkatakrisnan, & Dhandapani, 2017). Fikoeitrin merupakan protein oligomerik yang memiliki 3 sub-unit, yaitu α , β , dan γ dengan bentuk $(\alpha\beta)_6\gamma$ heksamer dan kromofor (fikobilin) berstruktur tetrapirrol (Charrier, Wichard, & Reddy, 2018; Pan et al., 2013). Jenis fikobilin dari senyawa ini adalah *peptide-linked phycoerythrobilin* (PEB) dan *peptide-linked phycourobilin* (PUB) yang berikatan dengan sisteina pada rantai polipeptida berikatan tioeter (Dumay, Nguyen, Morancais, & Fleurence, 2015; Isailovic, Li, & Yeung, 2004; Vasquez-Suarez et al., 2018).

Karakteristik kimia dari fikoeitrin menyebabkan senyawa ini mampu menghentikan *Reactive Oxygen Species* (ROS) melalui reaksi oksidasi-reduksi, sehingga dapat meredam dampak negatif radikal bebas, memperkuat sistem pertahanan terhadap oksidan, serta melindungi kerusakan akibat proses oksidatif (Andriani, 2007; Hamza, Al-Bishri, Omar, & Danial, 2014; Jung et al., 2016; Sonani, Singh, Kumar, Thakar, & Madamwar, 2014; Supardy, Ibrahim, Sulaiman, & Zakaria, 2011; Winarsi, 2007). Daya antiosidan fikoeitrin ini telah dilaporkan melebihi aktivitas antioksidan komersial, seperti *butylated hydroxytoluene* (Pugalendren, Sarangam, & Rengasamy, 2017; Punampalam, Khoo, & Sit, 2018).

Penelitian terdahulu telah melaporkan berbagai pelarut untuk ekstraksi dan isolasi fikoeitrin. Misalnya akuades; aseton 80%; dan bufer fosfat pH 7,2 (Jung et al., 2016; Punampalam, Khoo, & Sit, 2018; Wenno, 2014; Sudhakar, Jagatheesan, Perumal, & Arunkumar, 2015). Selain jenis pelarut, lama waktu ekstraksi juga menjadi faktor yang penting dalam maserasi (Wahyuni & Widjanarko, 2015). Metode yang tepat dibutuhkan untuk dapat mengekstrak senyawa target dengan maksimal.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pelarut dan durasi waktu yang tepat dalam ekstraksi fikoeitrin dari rumput laut *Halymenia* sp. Sampel diambil dari perairan Binuangeun (Banten), yang telah ditelaah pada penelitian sebelumnya memiliki berbagai jenis rumput laut merah dengan bioaktivitas antioksidan (Nursid et al., 2016; Yanti, Koesnoto, Sutanto, &

Hwang, 2015). Proses ekstraksi dilakukan terhadap tiga pelarut maserasi (akuabides, buffer fosfat, dan aseton) dengan 4 waktu maserasi (24, 48, 72, dan 96 jam), untuk mengetahui teknik yang menghasilkan rendemen, kemurnian, dan aktivitas antioksidan terbaik.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Rumput laut merah *Halymenia* sp. diambil di pesisir perairan Binuangeun, Lebak, Provinsi Banten. Sampel diambil dari pantai saat surut, lalu dibersihkan dengan air laut. Selanjutnya, sampel disimpan dalam *cool box* yang telah diberikan es untuk preservasi selama transportasi ke laboratorium di Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan di Jakarta. Selain itu, bahan kimia yang digunakan adalah buffer fosfat (Merck Millipore), aseton analitis (JT Baker), reagen FRAP (Sigma Aldrich), dan standar asam askorbat (Merck).

Metode

Perlakuan jenis pelarut ekstraksi

Sampel *Halymenia* sp. sebanyak 100 g dipotong kecil-kecil kemudian dihaluskan menggunakan alu dan mortar. Sampel ini dimaserasi dalam 3 jenis pelarut, yaitu 200 mL pelarut akuabides; 0,02 M buffer fosfat pH 6,8; dan aseton 80%. Maserasi dilakukan dalam suhu 20°C dan kondisi gelap selama 48 jam. Filtrat dikeringkan dengan *freeze-dryer* (*Freeze Dryer 2-8 LD Plus Martin Christ*) setelah proses maserasi selesai. Variabel yang digunakan untuk menentukan jenis pelarut terbaik adalah rendemen dan kemurnian fikoeitrin, serta aktivitas antioksidan ekstrak.

Perlakuan durasi waktu maserasi

Variasi waktu dilakukan terhadap ekstrak terbaik dari perlakuan pertama, yaitu pada 24, 48, 72, serta 96 jam. Kondisi maserasi adalah pada suhu 20°C dan gelap. Filtrat kembali dikeringkan dengan *freeze-dryer* (*Freeze Dryer 2-8 LD Plus Martin Christ*) setelah perlakuan durasi waktu ekstraksi selesai. Variabel yang serupa dengan perlakuan jenis pelarut juga dipergunakan untuk penentuan waktu ekstraksi terbaik.

Rendemen dan kemurnian fikoeitrin

Identifikasi fikoeitrin dilakukan menurut Dumay et al. (2015), yaitu berdasarkan serapan absorbansi UV-Vis pada spektrometer UV-Vis (Thermo Scientific Multiscan). Konsentrasi dan kemurnian pigmen fikoeitrin dikalkulasi menurut persamaan 1 (Sampath-

Wiley & Neefus, 2007) dan persamaan 2 (Dumay et al., 2015). Rendemen dari fikoeritrin dihitung terhadap bobot sampel segar yang diekstraksi.

$$PE \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \right) = \frac{0,1247 (A_{565} - A_{730})}{0,4583 (A_{618} - A_{730})} \dots\dots\dots (1)$$

$$\text{Purity index} = \frac{A_{565}}{A_{280}} \dots\dots\dots (2)$$

Aktivitas antioksidan

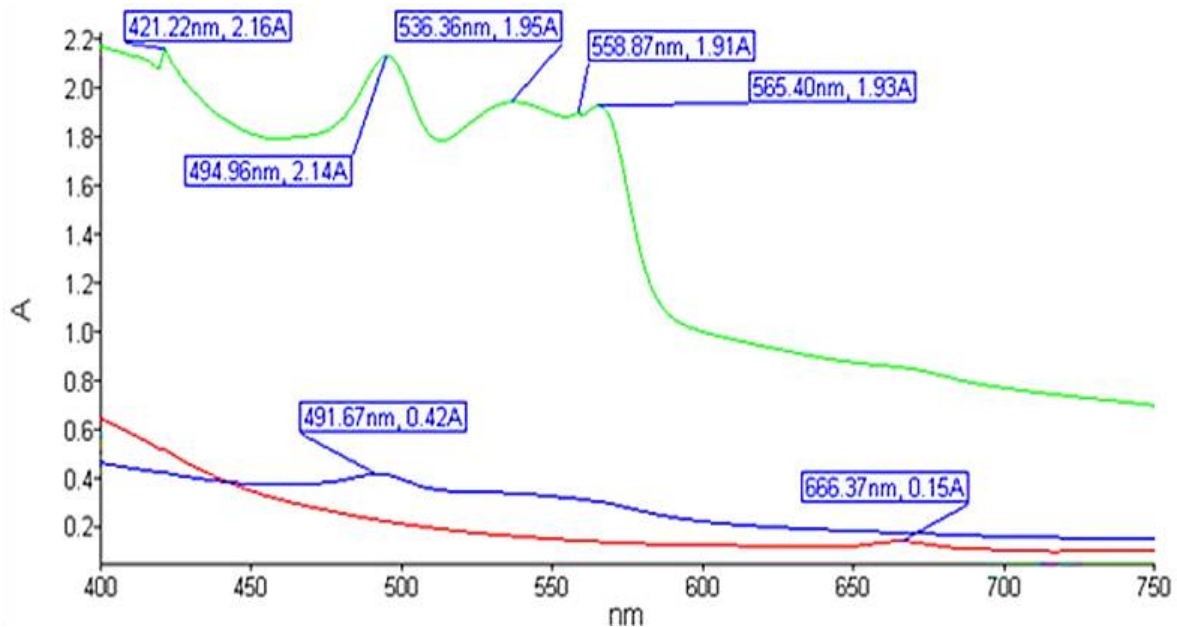
Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode FRAP dari Benzie dan Strain (1996). Asam askorbat digunakan sebagai standar pada konsentrasi 10-1000 mg/mL, sementara sampel pada 10 mg/mL. Sampel dan standar sebanyak 10 µL direaksikan dengan 150 µL reagen *Ferric Reducing Antioxidant Power* (FRAP), lalu diinkubasi dalam suhu ruang dan kondisi gelap selama 30 menit. Serapan absorbansi pada 593 nm diukur menggunakan spektrometer UV-Vis (Thermo Scientific Multiscan). Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak dua kali. Angka rata-rata selanjutnya dikurangi serapan blangko, kemudian dimasukkan ke persamaan kurva standar vitamin C sehingga didapatkan nilai aktivitas antioksidan *Ekuivalen Asam Askorbat* (EAA). Nilai ini lalu dikonversi menjadi mg/100 g ekstrak.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Perlakuan Pelarut Ekstraksi

Secara visual, sampel ekstrak *Halymenia* sp. yang diekstrak oleh pelarut aseton 80% berwarna hijau. Warna ekstrak akuabides dan buffer fosfat pH 6,8 adalah merah muda dan pekat. Hasil identifikasi kualitatif menunjukkan bahwa tiap ekstrak memiliki pola absorbansi maksimum UV-Vis yang berbeda (Gambar 1). Ekstrak buffer fosfat pH 6,8 memiliki puncak spektrum pada panjang gelombang 494 nm dan 565 nm; akuabides di 491 nm; dan aseton 80% di 666 nm. Sementara itu, pengujian secara kuantitatif menunjukkan bahwa rendemen terbesar adalah ekstrak buffer fosfat pH 6,8 (Tabel 1). Hal yang selaras juga terdeteksi pada indeks kemurnian dan aktivitas antioksidan.

Warna hijau pada ekstrak aseton 80% dapat diakibatkan oleh klorofil. Godinez-Ortega, Snoeijs, Robledo, Freile-Pelegrin, dan Pederse (2007) menerangkan bahwa rumput laut merah genus *Halymenia* memiliki kandungan pigmen klorofil. Data absorbansi maksimum dari ekstrak aseton 80% adalah karakteristik dari turunan klorofil, yaitu feofitin *b* (Gibbs, 1979). Sebaliknya, pigmen fikoeritrin memiliki warna merah muda keunguan, dengan karakteristik puncak spektrum di 495 nm dan 565 nm (Niu, Xu, Wang, Zhang, & Peng, 2013; Sudhakar,



Gambar 1. Spektrum UV-Vis dari ekstrak aseton 80% (merah); buffer fosfat pH 6,8 (hijau); dan akuabides (biru) *Halymenia* sp.

Figure 2. UV-Vis spectrum of acetone 80% (red), buffer phosphat pH 6.8 (green), and aquabidest (blue) extracts of *Halymenia* sp.

Tabel 1. Indeks kemurnian dan konsentrasi fikoeritrin, serta aktivitas antioksidan (Ekuivalen Asam Askorbat pada 10 mg/mL ekstrak) ekstrak aseton 80%; buffer fosfat pH 6,8; dan akuabides *Halymenia* sp.

Table 1. Purity index and concentration and phycoeritrin, and antioxidant activity (Equivalent Ascorbic Acid at 10 mg/mL extract) of acetone 80%, buffer phosphat pH 6.8, and aquabidest extract from *Halymenia* sp

Jenis Pelarut/Solvent type	Akuabides/ Aquabidest	Aseton 80%/ Acetone 80%	Buffer fosfat pH 6,8/ Phosphate buffer pH 6.8
Parameter/Parameters			
Indeks Kemurnian/Purity Index	0.21	0.06	0.57
Rendemen/Yield (mg/g)	1.76	0.91	2.91
Antioksidan/Antioxidant (EAA/100 g extract)	2.39	2.30	3.14

Saraswathi, & Nair, 2014). Hal ini mengindikasikan bahwa ekstrak buffer fosfat pH 6,8 dan akuabides mengandung pigmen fikoeritrin yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak aseton 80%.

Kemampuan buffer fosfat untuk memperoleh rendemen lebih tinggi dari air dan aseton 80% disebabkan oleh karakteristik fikoeritrin yang berikatan dengan protein. Protein telah diketahui hanya dapat berfungsi secara aktif pada rentang pH yang terbatas (Girindra, 1993; Naga, Adiguna, Retnoningtyas, & Ayucitra, 2010; Sudhakar et al., 2014). Buffer memiliki kemampuan dalam mempertahankan pH, sehingga stabilitas pigmen yang utuh dapat terdeteksi dengan absorbansi sinar UV-Vis di 565nm (MacColl, Eisele, Williams, & Bowser, 1996). Sebaliknya, akuabides dan aseton 80% tidak dapat mempertahankan nilai pH dan hal ini menyebabkan degradasi protein pada pigmen (Setyawan & Satria, 2013). Selain itu, indeks kemurnian menentukan aplikasi dari ekstrak yang diperoleh (Charrier et al., 2018; Rossano, Ungaro, D'Ambrosio, Liuzzi, & Riccio 2003). Penelitian Pan et al. (2013) menunjukkan angka indeks kemurnian fikoeritrin; yaitu *food grade* adalah di atas 0,7 dan *drug class* lebih dari 2. Berdasarkan hal ini, maka

fikoeritrin dalam ekstrak penelitian masih tergolong kasar dan harus dimurnikan lebih lanjut untuk mencapai nilai lebih dari 0,7.

Perlakuan Durasi Waktu Ekstraksi

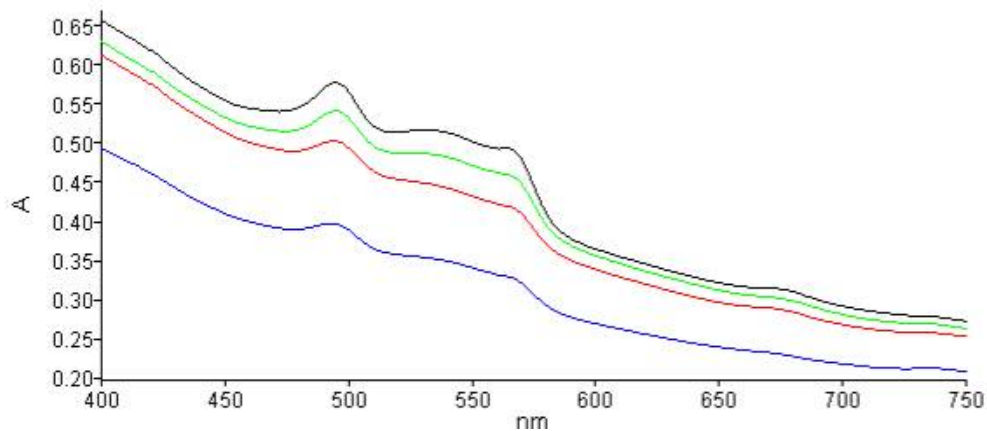
Perlakuan durasi waktu ekstraksi dilakukan terhadap ekstrak buffer fosfat yang memiliki rendemen, kemurnian, dan aktivitas antioksidan lebih baik. Hasil karakterisasi secara kualitatif menunjukkan bahwa proses ekstraksi selama 24 jam memperoleh hasil dengan absorbansi tertinggi. Selanjutnya, proses yang memiliki rendemen tertinggi secara berturut-turut adalah durasi waktu ekstraksi selama 48, 72, dan 96 jam (Gambar 2). Kepekatan warna ekstrak kering pun terlihat secara visual, bahwa semakin lama durasi waktu maserasi, maka warna ekstrak semakin pudar. Pada uji kuantitatif, waktu maserasi 24 jam memiliki rendemen tertinggi (Tabel 2).

Perlakuan durasi ekstraksi menunjukkan bahwa waktu maserasi terkait dengan rendemennya. Hal ini berhubungan dengan sifat pigmen yang sensitif terhadap suhu, pH, dan cahaya (Munier et al., 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Purba, Suhendra, dan

Tabel 2. Indeks kemurnian dan konsentrasi fikoeritrin, serta aktivitas antioksidan (Ekuivalen asam askorbat pada 10 mg/mL) ekstrak buffer fosfat *Halymenia* sp. pada durasi waktu ekstraksi selama 24, 48, 72, dan 96 jam

Table 2. Purity index and concentration of phycoeritrin and antioxidant activity (Equivalent Ascorbic Acid at 10 mg/mL) of phosphate buffer *Halymenia* sp. extract in 24, 48, 72, and 96 hours of extraction

Waktu/Time	24 jam/ 24 hours	48 jam/ 48 hours	72 jam/ 72 hours	96 jam/ 96 hours
Parameter/Parameters				
Indeks Kemurnian/Purity Index	0.24	0.25	0.23	0.20
Rendemen/Yield (mg/g)	1.72	15.11	13.69	12.48
Antioksidan/antioxidant (EAA/100 g extract)	0.74	0.87	0.75	0.74



Gambar 2. Spektrum UV-Vis dari ekstrak buffer fosfat *Halymenia sp.* pada durasi waktu ekstraksi selama 24 (coklat), 48 (hijau), 72 (merah), dan 96 jam (biru)

Figure 2. UV-Vis Spectrum of buffer phosphate *Halymenia sp.* extract for 24 (brown), 48 (green), 72 (red), and 96 hours (blue) of extraction

Wartini (2019) juga menemukan hal serupa. Maserasi yang terlalu lama mengakibatkan fikoeritrin rusak atau terdenaturasi karena terhidrolisis. Lebih tingginya data antioksidan pada maserasi selama 48 jam menunjukkan bahwa terdapat kemungkinan adanya senyawa bersifat antioksidan lain, yang terekstrak lebih banyak seiring dengan waktu hingga 48 jam. Senyawa yang larut organik dapat diduga menjadi penyebab hal ini, karena daya kelarutannya yang akan lebih rendah dalam pelarut air atau buffer.

KESIMPULAN

Penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut bufer fosfat pH 6,8 dengan durasi waktu maserasi 24 jam pada ekstraksi *Halymenia sp.* menghasilkan rendemen fikoeritrin tertinggi. Namun, indeks kemurnian fikoeritrin dari ekstrak buffer fosfat masih harus dimurnikan lebih lanjut, agar mencapai nilai indeks kemurnian *food grade*; yaitu di atas 0,7.

DAFTAR PUSTAKA

- Andriani, Y. (2007). Uji aktivitas antioksidan ekstrak Betaglukan dari *Saccharomyces cerevisiae*. *Jurnal Ilmiah MIPA Gradien*, 3(1), 226-230.
- Benzie, I. F. F. & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76. doi: 10.1006/abio.1996.0292
- Charrier, B., Wichard, T., & Reddy, C. R. K. (2018). *Protocols for macroalgae research 1st edition*, Taylor & Francis Group: CRC Press.
- D'Alessandro, E. B. D. & Antoniosi, N. R. (2016). Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae : a Review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 58, 832-841. doi: 10.1016/j.rser.2015.12.162.
- Dumay, J., Nguyen, H. P. T., Morancas, M., & Fleurence, J. (2015). *Natural products from marine Algae: methods and protocols* (pp. 109-117). Humana Press. doi: 10.1007/978-1-4939-2684-8.
- Gibbs, C. F. (1979). Chlorophyll b interference in the fluorometric determination of chlorophyll a and phaeopigments. *Australian Journal of Marine and Freshwater Research*, 30(5), 597-606. doi: 10.1071/MF9790597.
- Girindra, A. (1993). *Biokimia I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Godinez-Ortega, J. L., Snoeijs, P., Robledo, D., Freile-Pelegrin, Y., & Pederse, M. (2007). Growth and pigment composition in the red alga *Halymenia floresii* cultured under different light qualities. *Journal of Applied Phycology*, 20(3), 253-260. doi: 10.1007/s10811-007-9241-0.
- Guillard, C. L., Dumay, J., Donnay-Moreno, C., Bruzac, S., Ragon, J., Fleurence, J., & Berge, J. (2015). Ultrasound-assisted extraction of R-phycoerythrin from *Grateloupia turuturu* with and without enzyme addition. *Algal Research*, 12, 522-528. doi: 10.1016/j.algal.2015.11.002.
- Hamza, A. H., Al-Bishri, W., Omar, H. H., & Danial, E. N. (2014). Potential antimicrobial, antioxidant, and anityrosinase activities achieved by Selected species of marine macroalgae. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 8(1), 257-265.
- Isailovic, D., Li, H., & Yeung, E. S. (2004). Isolation and characterization of R-Phycoerythrin subunit and enzymatic digests. *Journal of Chromatography A*, 1051, 119-130. doi:10.1016/j.chroma.2004.07.038.
- Jung, S., Park, J. S., Shim, H. J., Kwon, Y. S., Kim, H. G., & Shin, H. S. (2016). Antioxidative effect of phycoerythrin derived from *Grateloupia filicina* on rat primary

- astrocytes. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 21, 676-682. doi: 10.1007/s12257-016-0369-0
- MacColl, R., Eisele, L. E., Williams, E. C., Bowser, S. S. (1996). The discovery of a novel R-Phycocerythrin from an Antarctic red alga. *The Journal of Biological Chemistry*, 271(29), 17157-17160. doi: 10.1074/jbc.271.29.17157.
- Munier, M., Jubeau, A., Wijaya, A., Morancais, M., Dumay, J., Marchal, L., Jaouen, P., & Fleurence, J. (2014). Physicochemical factors affecting the stability of two pigments : R-phycoerythrin of *Grateloupia turuturu* and B-phycoerythrin of *Porphyridium cruentum*. *Food Chemistry*, 150, 400-407. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.10.113.
- Naga, W. S., Adiguna, B., Retnoningtyas, E. S., & Ayucitra, A. (2010). Koagulasi protein dari ekstrak biji kecipir dengan metode pemanasan. *Jurnal Ilmiah Widya Teknik*, 9(1), 1-11. doi: 10.33508/wt.v9i1.1292.
- Niu, J., Xu, M., Wang, G., Zhang, K., & Peng, G. (2013). Comprehensive extraction of agar and R-phycoerythrin from *Gracilaria lemaneiformis* (Bangiales, Rhodophyta). *Indian Journal of Geo-Marine Sciences*, 42(1), 21-28.
- Nursid, M., Marraskuranto, E., Atmojo, K. B., Hartono, T. M. P., Meinita, M. D. N., & Riyanti. (2016). Investigation on antioxidant compounds from marine algae extracts collected from Binuangeun Coast, Banten, Indonesia. *Squalen Bulletin of Marine and Fisheries Postharvest and Biotechnology*, 11(2), 59-67. doi: 10.15578/squalen.v11i2.243.
- Pan, Q., Chen, M., Li, J., Wu, Y., Zhen, C., & Liang, B. (2013). Antitumor Function and Mechanism of Phycocerythrin from *Porphyra haitanensis*. *Biology Research*, 46(1), 87-95. https://doi: 10.4067/S0716-97602013000100013.
- Pugalendren, S., Sarangam, B., & Rengasamy, R. (2017). Antioxidant properties of R-phycoerythrin from *Kappaphycus Alvarezii* (Doty) Doty Ex Silva. *Journal of Innovative Research and Solutions*, 3(1), 47-56.
- Punampalam, R., Khoo, K. S., Sit, N. W. (2018). Evaluation of antioxidant properties of phycobiliproteins and phenolic Compounds Extracted from *Bangia atropurpurea*. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 14(2), 289-297. doi: 10.11113/mjfas.v14n2.1096
- Purba, N. E., Suhendra, L., & Wartini, N. M. (2019). Pengaruh suhu dan lama ekstraksi dengan cara maserasi terhadap karakteristik pewarna dari ekstrak alga merah (*Gracilaria* sp.). *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*, 7(4), 488-498. doi: 10.24843/jrma.2019.v07.i04.p01
- Rossano, R., Ungaro, N., D'Ambrosio, A., Liuzzi, G. M., & Riccio, P. (2003). Extracting and purifying R-phycoerythrin from Mediterranean red algae *Corallina elongata* Ellis & Solander. *Journal of Biotechnology*, 101, 289-293. doi: 10.1016/S0168-1656(03)00002-6
- Sampath-Wiley, P. & Neefus, C. D. (2007). An improved method for estimating R-phycoerythrin and R-phycoerythrin contents from crude aqueous extract of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 19(2), 123-129. doi: 10.1007/s10811-006-9118-7.
- Sethilkumar, N., Suresh, V., Thangam, R., Kurinjimalar, C., Kavitha, G., Murugan, P., Kannan, S., & Rengasamy, R. (2013). Isolation and characterization of macromolecular protein R-phycoerythrin from *Portieria hornemannii*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 55, 150-160. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2012.12.039.
- Setyawan, P. E. & Satria, Y. (2013). Optimalisasi Ekstraksi dan Uji Stabilitas Pycocyanin dari Mikroalga *Spirulina platensis*. *Jurnal Teknologi Kimia dan Industri*, 2(2), 61-67. https://doi.org/10.14710/teknik.v3i2i3.1734
- Sharmila, V. M., Santhosh, S., Hemalatha, V., Venkatakrisnan, V., & Dhandapani, R. (2017). Optimization Study on Extraction & Purification of Phycocerythrin from Red Algae *Kappaphycus alvarezii*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 10(2), 297-302. doi: http://dx.doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i2.15598.
- Sonani, R. R., Singh, N. K., Kumar, J., Thakar, D., & Madamwar, D. (2014). Concurrent purification and antioxidant activity of phycobiliproteins from *Lyngbya* sp. A09DM: an antioxidant and anti-aging potential of phycocerythrin in *Caenorhabditis elegans*. *Process Biochemistry*, 49(10): 1757-1766. doi: 10.1016/j.procbio.2014.06.022.
- Sudhakar, M. P., Saraswathi, M., & Nair, B. B. (2014). Extraction, purification, and application study of R-phycoerythrin from *Gracilaria corticata* (J. Agardh) J. Agardh var. *Corticata*. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 5(4), 371-374.
- Sudhakar, M. P., Jagatheesan, A., Perumal, K., & Arunkumar, K. (2015). Methods of phycobiliprotein extraction from *Gracilaria crassa* and its applications in food colourants. *Algal Research*, 8, 115-120. doi: 10.1016/j.algal.2015.01.011.
- Supardy, N. F., Ibrahim, D., Sulaiman, S. F., & Zakaria, N. A. (2011). Free radical scavenging activity, total phenolic content, and toxicity level of *Halimeda discoidea* (decaisne) extracts (Malaysia's green microalgae). *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(5), 397-402.
- Vasquez-Suarez, A., Lobos-Gonzales, F., Cronshaw, A., Sepulveda-Ugarte, J., Figueroa, M., Dagnino-Leone, J., Bunster, M., & Martinez-Oyanedel, J. (2018). The c³³ subunit of R-phycoerythrin from *Gracilaria chilensis* has a typical double linked phycocouobilin similar to c subunit. *PLOS ONE*, 13(4), 1-13. doi: 10.1371/journal.pone.0195656.
- Wahyuni, D., & Widjanarko, S. B. (2015). Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karatoneid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonik. *Jurnal Pangan dan Agro Industri*, 3(2), 390-401.
- Wenno, P. A. (2014). Pertumbuhan dan kandungan pigmen dari rumput laut merah *Kappaphycus*

alvarezii (Doty), hasil budidaya di perairan dengan kedalaman berbeda. *TRITON*, 10(2), 71-78.

Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

Yanti., Koesnoto, F. H., Sutanto, A., & Hwang, J. (2015). Antioxidant potentials of marine red and green algae extracts in-vitro. *Scholars Academic Journal of Pharmacy*, 4(3), 177-180..