

KOMPOSISI KIMIA DAN AKTIVITAS ANTIHIPERGLIKEMIK BIOMASSA DAN POLISAKARIDA EKSTRASELULER DARI MIKROALGA *Porphyridium cruentum*

Chemical composition and Antihyperglychemic Activity of Biomass and Extracellular Polysaccharide of Microalgae Porphyridium cruentum

Iriani Setyaningsih*, Ella Salamah, Dwi Abdia Rahman

Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, IPB

*Korespondensi: Jln. Lingkar Akademik, Kampus IPB Dramaga-Bogor 16680 Telp. +622518622915

Fax. +622518622916. E-mail: iriani25@gmail.com

Diterima 24 April 2013/Disetujui 13 Mei 2012

Abstract

The aim of this research was to determine chemical composition, active compound and antihyperglychemic (α -glucosidase inhibition) activity of biomass and extracellular polysaccharide of *Porphyridium cruentum*. The *Porphyridium cruentum* cells were cultivated in Becker medium at 27-28,5°C, continuously aerated and lighted at 500-2000 lux. The cells were harvested at the end of the stationary phase. Their biomass and extracellular polysaccharide were determined for term of chemical composition, active components, and antihyperglychemic activities. The results indicated that moisture, ash, protein, fat, and carbohydrate composition of dried biomass were 11.67%, 38.34%, 5.54%, 0.33%, and 44.12%, respectively. Active components found in the dried biomass were alkaloids, flavonoids and phenol hydroquinones. The value of α -glucosidase inhibition of dried biomass and extracellular polysaccharides were 33.82% and 71.57%, respectively.

Keywords: antihyperglychemic, polysaccharide, *Porphyridium cruentum*

Abstrak

Tujuan penelitian ini adalah menentukan komposisi kimiawi, komponen aktif serta aktivitas antihiperqlikemik (inhibisi α -glucosidase) dari biomassa dan polisakarida ekstraseluler *Porphyridium cruentum*. Sel *Porphyridium cruentum* dikultivasi dalam medium Becker pada suhu 27-28,5°C, diaerasi secara kontinyu dan pencahayaan 500-2000 lux. Kultur dipanen pada akhir fase pertumbuhan stasioner. Biomassa dan polisakarida ekstraselulernya dianalisis terhadap komposisi kimia, komponen aktif, dan aktivitas antihiperqlikemik. Hasil penelitian menunjukkan kandungan air, abu, protein, lemak, dan karbohidrat biomassa kering *Porphyridium cruentum* berturut-turut adalah 67%; 38,34%; 5,54%; 0,33%; dan 44,12%. Komponen aktif yang terkandung dalam biomassa kering meliputi alkaloid, flavonoid dan fenol hidroquinon. Inhibisi α -glukosidase dari biomassa kering dan polisakarida ekstraseluler berturut-turut adalah 33,82% dan 71,57%.

Kata kunci: antihiperqlikemik, polisakarida, *Porphyridium cruentum*

PENDAHULUAN

Penderita diabetes di Indonesia menduduki peringkat ke-4 dunia setelah China, India, dan Amerika Serikat. *Diabetes mellitus* (DM) merupakan penyakit yang tidak dapat disembuhkan, tetapi dapat dikontrol dengan melakukan upaya perencanaan diet, mempertahankan bobot badan normal dan

melakukan olah raga yang cukup. Obat diperlukan jika setelah melakukan upaya tersebut tidak berhasil mengendalikan kadar glukosa darah (Sugiwati 2006). *Diabetes mellitus* adalah suatu kondisi tubuh dimana konsentrasi glukosa dalam darah secara kronis lebih tinggi daripada nilai normal (hiperqlikemia), yang terjadi karena tubuh

kekurangan insulin atau fungsi insulin tidak efektif. Penanggulangan kondisi ini diperlukan senyawa yang mempunyai aktivitas antihiperqlikemik.

Berbagai obat dan herbal antidiabetik telah banyak ditemui di pasaran. Antidiabetik yang berasal dari senyawa kimia yang dikonsumsi terus menerus dalam waktu lama mungkin menimbulkan efek samping, dengan demikian penemuan bahan alami yang mempunyai aktivitas antidiabetes dan aman dikonsumsi sangat diperlukan.

Beberapa penelitian telah menunjukkan adanya aktivitas hipoglikemik pada polisakarida berupa alginat, xanthan, dan polisakarida yang berasal dari mikroba. Mikroalga *Porphyridium cruentum* merupakan salah satu penghasil polisakarida ekstraseluler dalam jumlah besar yang mengandung D-xylose, D-glucose, D-galactose, R-galactose, 3-O-methylxylose, 3-O-methylgalactose, 4-O-methylgalactose, dan asam D-glucuronic (Percival dan Foyle 1979). Berdasarkan kandungannya, polisakarida dari *Porphyridium cruentum* diduga mempunyai aktivitas antihiperqlikemik atau memiliki inhibitor α -glukosidase, untuk itu penelitian potensi *Porphyridium cruentum* dalam menghasilkan senyawa yang memiliki aktivitas antihiperqlikemik atau memiliki inhibitor α -glukosidase perlu dilakukan.

Penelitian ini ditujukan menganalisis komposisi kimia, komponen aktif dan aktivitas antihiperqlikemik dari biomassa kering dan polisakarida ekstraseluler *Porphyridium cruentum*.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Mikroalga yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Porphyridium cruentum* yang diperoleh dari Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Jakarta. Bahan-bahan yang digunakan meliputi bahan untuk kultur (media Becker, etanol sebagai bahan pengendap polisakarida), bahan analisis komposisi kimia (H_2SO_4 , NaOH, asam borat, HCl, pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer,

dan pereaksi Wagner), bahan analisis inhibisi α -glukosidase (*bovine serum albumin*, asam sulfat, enzim α -glukosidase, bufer fosfat pH 7, p-nitrofenil- α -D-glukopiranososa, Glucobay, dan *Dimethyl Sulfoxide*).

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat untuk kultivasi (tabung kultur, lampu TL 40 Watt, pompa 500-AP), alat-alat gelas, mikroskop (*Cole Parmer*), haemositometer (*Marienfeld*), tanur, timbangan, sentrifuse (Himac CR21G), lampu UV, drying oven (Yamato DV 41), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2800), inkubator (WTB Binder), destilator, dan penangas air.

Metode Penelitian

Kultivasi dan Pemanenan *Porphyridium cruentum*

Kultivasi dilakukan dalam medium Becker yang diaerasi secara terus menerus pada suhu lingkungan 27-28,5°C, intensitas cahaya 500-2000 lux dan pH 7,6. Pemanenan dilakukan pada fase pertumbuhan stasioner dan pemisahan biomassa dari media kultur dilakukan dengan cara pengendapan menggunakan sentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C. Media kultur, selanjutnya disimpan pada suhu refrigerasi untuk keperluan pemisahan polisakarida.

Pemisahan Polisakarida

Pemisahan polisakarida dari media kultur dilakukan dengan pengendapan dalam etanol 96% dengan rasio media kultur dan etanol 1:2; 1:1; 1:0,75; 1:0,5; dan 1:0,25 (v/v) dan disaring dengan kertas saring. Rasio etanol dan media kultur yang menghasilkan bobot polisakarida tertinggi digunakan untuk penelitian ini.

Endapan polisakarida dianalisis terhadap komposisi, komponen aktif (fitokimia) dan inhibisi α -glukosidase. Analisis kadar air, abu, protein, dan lemak dilakukan menggunakan metode AOAC (2005). Kadar air ditentukan setelah pengeringan sampel dalam oven pada suhu 105°C sampai beratnya konstan dan kadar abu ditentukan setelah insinerasi

dalam tanur pada suhu 600°C selama 6 jam. Kandungan protein dianalisis dengan prosedur micro-Kjeldahl, dan protein kasar diestimasi sebagai Nx6,25. Lemak kasar diestimasi setelah sampel diekstraksi dengan Soxhlet menggunakan n-heksana. Analisis fitokimia dilakukan menurut metode Harborne (1987) dan inhibisi α -glukosidase mengacu pada metode Sugiwati (2006).

Analisis Fitokimia Biomasa dan Polisakarida

Alkaloid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam beberapa tetes asam sulfat 2 N kemudian diuji dengan tiga pereaksi alkaloid yaitu, pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer, dan pereaksi Wagner. Hasil uji dinyatakan positif bila dengan pereaksi Meyer terbentuk endapan putih kekuningan, endapan coklat dengan pereaksi Wagner dan endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff.

Steroid/triterpenoid

Sejumlah sampel dilarutkan dalam 2 mL kloroform dalam tabung reaksi yang kering dan selanjutnya ditambahkan 10 tetes anhidra asetat dan 3 tetes asam sulfat pekat.

Flavonoid

Sejumlah sampel ditambahkan serbuk magnesium 0,10 mg dan 0,40 mL amil alkohol (campuran asam klorida 37% dan etanol 95% dengan volume yang sama) dan 4 mL alkohol kemudian campuran dikocok. Reaksi positif ditandai dengan munculnya warna merah, kuning atau jingga yang terbentuk pada lapisan amil alkohol.

Saponin (uji busa)

Saponin dideteksi dengan uji busa dalam air panas. Busa selama 30 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan reaksi positif saponin.

Fenol hidrokuinon (pereaksi FeCl₃)

Sebanyak 1 g sampel diekstraksi dengan 20 mL etanol 70% dan larutan yang

dihasilkan diambil sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan 2 tetes larutan FeCl₃ 5%. Reaksi positif ditandai dengan munculnya warna hijau atau hijau biru.

Analisis Inhibitor α -glukosidase

Campuran yang terdiri atas bufer fosfat, p-nitrofenil α -D-glukopiranosida, sampel dilarutkan dalam dimetil sulfoksida (DMSO) dipersiapkan, lalu diinkubasi pada suhu 37°C, kemudian larutan enzim α -glukosidase ditambahkan dan diinkubasi selama 15 menit, lalu ditambahkan natrium karbonat (200 mM). Selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 400 nm.

Kerja enzim dapat dihambat oleh senyawa kimia tertentu. Enzim memiliki sisi aktif yang dapat mengenali secara spesifik substrat yang sesuai, sehingga memungkinkan untuk merancang inhibitor enzim yang dapat menghalangi pengikatan substrat pada enzim. Aktivitas enzim diukur berdasarkan hasil absorbansi p-nitrofenol. Apabila biomassa dan polisakarida ekstraseluler memiliki kemampuan menghambat aktivitas enzim α -glukosidase, maka p-nitrofenol yang dihasilkan akan berkurang.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Porphyridium cruentum*

Kultur *Porphyridium cruentum* berwarna merah terang. Warna ini terkait dengan keberadaan fikoeritrin sebagai pigmen yang dominan pada mikroalga *Porphyridium cruentum* (Kusmiyati dan Agustini 2006). Makin lama kultivasi, warna kultur makin merah. Kenaikan kepekatan warna kultur mengindikasikan terjadinya pertambahan sel pada kultur tersebut, yang sekaligus menunjukkan terjadinya pertumbuhan. Kurva pertumbuhan *Porphyridium cruentum* disajikan pada Gambar 1.

Kultivasi pada penelitian ini dilakukan pada rentang suhu 27-28,5°C dan mikroalga mampu tumbuh dengan baik. Kultur yang ditumbuhkan di bawah cahaya secara kontinyu tumbuh dengan cepat. Cahaya

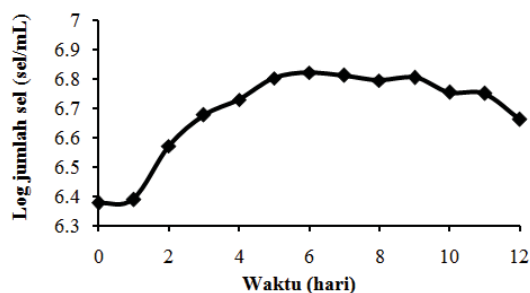
merupakan faktor lingkungan yang penting untuk kultivasi mikroalga, yaitu sebagai faktor utama pada fotosintesis.

Pertumbuhan *Porphyridium cruentum* diawali dengan fase lag, kemudian fase logaritmik, fase stasioner dan fase kematian. Hasil penelitian ini berbeda dengan Kusmiyati dan Agustini (2007), yang menyatakan bahwa *Porphyridium cruentum* tidak terdeteksi mengalami fase lag.

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga antara lain suhu, pencahayaan, nutrisi, kondisi kultur. Fase lag dalam pertumbuhan mikroalga dapat tidak terjadi bila inokulum yang digunakan berada dalam fase logaritmik, sehingga kultur tidak mengalami adaptasi. Pada penelitian ini inokulum yang digunakan berumur 7 hari, dimana sudah memasuki fase stasioner, sehingga saat ditumbuhkan dalam media baru, kultur mengalami fase pertumbuhan lag.

Produksi Polisakarida Ekstraseluler selama Pertumbuhan

Kandungan polisakarida ekstraseluler dari *Porphyridium cruentum* yang dikultivasi dalam media Becker meningkat setelah umur 6 hari. Polisakarida merupakan metabolit sekunder, yang biasanya disintesis pada akhir siklus pertumbuhannya. Arad *et al.* (1985) menyatakan bahwa ketebalan polisakarida bervariasi tergantung pada fase pertumbuhan dan kondisi pertumbuhan. Sebagian polisakarida disekresikan ke dalam medium pertumbuhan, sehingga viskositasnya semakin tinggi. Polisakarida ekstraseluler mikroalga *Porphyridium cruentum* merupakan

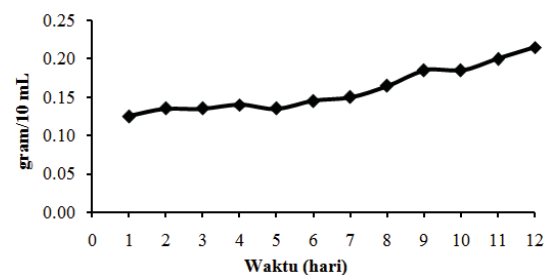


Gambar 1 Kurva pertumbuhan *Porphyridium cruentum*.

pembungkus sel dalam bentuk gel. Produksi polisakarida ekstraseluler selama kultivasi hingga 12 hari mengalami peningkatan (0,125-0,215 g/10 mL) (Gambar 2).

Kandungan polisakarida ekstraseluler dari *Porphyridium cruentum* meningkat setelah umur 6 hari. Polisakarida dari sel *Porphyridium cruentum* biasanya disintesis pada akhir siklus pertumbuhannya, dan merupakan cadangan makanan untuk bertahan hidup. Selain faktor lingkungan, fase pertumbuhan juga berpengaruh terhadap produksi polisakarida. Berdasarkan hasil pengukuran polisakarida, perbandingan filtrat dan etanol terpilih adalah 1:0,75 dengan kandungan polisakarida sebesar 0,110 g/5 mL. Hasil penelitian Singh *et al.* (2000) menunjukkan bahwa *P. cruentum* yang ditumbuhkan pada musim dingin memproduksi polisakarida berkisar 200 hingga 1000 mg/L. Arad *et al.* (1988) menyatakan bahwa terbatasnya jumlah nitrogen dalam medium akan menghambat fotosintesis, namun terbatasnya jumlah nitrogen ini akan berdampak pada meningkatnya ekskresi polisakarida ke dalam medium.

Cahaya biru dan merah dapat digunakan untuk meningkatkan efisiensi fotosintesis dan meningkatkan produksi polisakarida ekstraseluler. Pertumbuhan dan produksi polisakarida ekstraseluler *Porphyridium cruentum* dipengaruhi oleh intensitas dan panjang gelombang cahaya. Pertumbuhan *Porphyridium cruentum* meningkat seiring dengan peningkatan intensitas cahaya, meskipun cahaya yang melebihi titik jenuh menjadi penghambat pertumbuhan mikroalga (You dan Barnett 2004).



Gambar 2 Kurva polisakarida harian.

Komposisi Kimia Biomasa *Porphyridium cruentum*

Komposisi kimia biomassa kering *Porphyridium cruentum* dapat berbeda tiap kultur. Kadar air, abu, dan karbohidrat lebih tinggi, sedangkan kadar protein dan lemak lebih rendah (Tabel 1), biomassa *Porphyridium cruentum* dan polisakarida disajikan pada Gambar 3. Biomassa kering mikroalga *Porphyridium cruentum* mengandung kadar air sebesar 11,67%.

Biomassa kering mikroalga *Porphyridium cruentum* memiliki kadar abu sebesar 38,34% basis basah (bb), lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Fuentes *et al.* (2000), yaitu sebesar 20,00% bb. Tingginya kadar abu pada penelitian ini diduga karena biomassa setelah pemanenan tidak dicuci, sehingga masih tercampur dengan garam mineral dari media kultur *Porphyridium cruentum*. Perbedaan medium yang digunakan untuk menumbuhkan mikroalga juga dapat mempengaruhi kandungan abunya.

Fuentes *et al.* (2000) merekomendasikan biomassa setelah pemanenan dicuci dengan menggunakan 0,5 M NaCl dan air distilasi untuk menghilangkan materi non-biologi seperti garam mineral.

Kandungan protein *Porphyridium cruentum* sebesar 5,54% (bb) lebih kecil dibandingkan hasil penelitian Fuentes *et al.* (2000), yaitu sebesar 34,10% (bb). Faktor-faktor yang mempengaruhi komposisi kimia termasuk protein mikroalga antara adalah umur kultur, nutrisi, cahaya, suhu. Kandungan asam amino yang terdapat dalam *Porphyridium cruentum* diantaranya asam aspartat (14,9%), treonin (3,8%), serin (3,7%), asam glutamat (8%), prolin

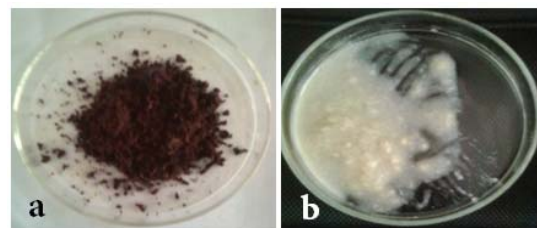
(2,3%), glisin (7,6%), alanin (12,1%), valin (5,8%), isoleusin (4,4%), leusin (3,9%), tirosin (0,8%), fenilalanin (1,7%), histidin (1,6%), lisin (4,5%), arginin (0,6%), dan metionin (2,6%) (Sprinkle *et al.* 1986).

Kandungan lemak *Porphyridium cruentum* sebesar 0,37% basis kering (bk) lebih rendah dari hasil penelitian Servel *et al.* (1993) sebesar 1,5% (bk), sedangkan penelitian Fuentes *et al.* (2000) sebesar 6,53% (bb). Perbedaan jumlah total lemak dipengaruhi oleh kondisi kultivasi, nutrisi yang digunakan, serta lamanya waktu penyinaran saat kultivasi. Sung *et al.* (2009) menyatakan bahwa total lemak (bb) *Porphyridium cruentum* pada siklus terang-gelap (12:12) lebih tinggi dibandingkan pada siklus terang-gelap (18:6) dan (6:18), dengan nilai total lemak berturut-turut adalah 19,3%, 18,3% dan 14,4%.

Kadar karbohidrat dengan metode *by difference* biomassa kering *Porphyridium cruentum* adalah 44,12% (bb). Penelitian Fuentes *et al.* (2000) menunjukkan kadar karbohidrat rata-rata biomassa kering *Porphyridium cruentum* yaitu 24-39,3. Kandungan karbohidrat pada mikroalga didukung karena adanya kandungan polisakarida dari *Porphyridium cruentum*. Polisakarida merupakan senyawa yang terdiri atas beberapa jenis gula, yang dapat berupa produk ekstraseluler. Singh *et al.* (2000) menyatakan bahwa polisakarida ekstraseluler mengandung xilosa sekitar 40-44%, galaktosa 30-32%, dan glukosa 26-29% dari total gula. Perbedaan komposisi biokimia alga secara umum dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan, yaitu suhu, cahaya, pH, medium, nutrisi, dan ketersediaan CO₂.

Tabel 1 Komposisi kimia *Porphyridium cruentum*

Komposisi	Biomassa kering (%)
Kadar air	11,67
Kadar abu	38,34
Protein	5,54
Lemak	0,33
Karbohidrat	44,12



Gambar 3 Biomassa (a) dan polisakarida (b) *Porphyridium cruentum*.

Komponen Fitokimia

Hasil analisis komponen fitokimia disajikan pada Tabel 2. Biomassa kering *Porphyridium cruentum* mengandung komponen kimia alkaloid, flavonoid, dan fenol hidrokuinon, sedangkan polisakarida ekstraseluler hanya mengandung komponen fenol hidrokuinon. Komponen yang sama juga dilaporkan oleh Harborne (1987) dimana alkaloid banyak yang mempunyai aktivitas fisiologis yang menonjol, sehingga digunakan secara luas dalam bidang pengobatan. Alkaloid kebanyakan berbentuk kristal, hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar.

Beberapa jenis mikroalga laut mengandung alkaloid. Harborne (1987) menyatakan bahwa fungsi alkaloid dalam tumbuhan belum jelas meskipun masing-masing senyawa telah dinyatakan berperan sebagai pengatur tumbuh atau penghambat atau penarik serangga.

Porphyridium cruentum juga mengandung flavonoid. Salamah *et al.* (2008) menyatakan bahwa golongan flavonoid mempunyai kemampuan untuk bertransformasi menghasilkan senyawa-senyawa yang mempunyai aktivitas biologi lebih tinggi.

Aktivitas inhibisi α -glukosidase

Inhibisi α -glukosidase rata-rata pada biomassa kering, polisakarida ekstraseluler *Porphyridium cruentum* dan kontrol positif (acarbose) berturut-turut adalah 33,82%;

71,57% dan 91% (Tabel 3). Polisakarida *Porphyridium cruentum* memiliki kemampuan menghambat α -glukosidase lebih besar dibandingkan biomasanya, namun perbedaan dan mekanisme kerja inhibisi dari polisakarida ekstraseluler *Porphyridium cruentum* yang berperan sebagai inhibitor tersebut belum diketahui. Lehninger (2004) menyatakan bahwa untuk mengetahui mekanisme inhibisi dari suatu inhibitor, perlu dilakukan pemetaan kebalikan ganda data kecepatan enzim.

Polisakarida ekstraseluler *Porphyridium cruentum* bila dibandingkan dengan acarbose, memiliki kemampuan inhibisi glukosidase sedikit lebih rendah, akan tetapi kemampuan tersebut mungkin dapat ditingkatkan dengan perlakuan lainnya. Oleh karena biomassa *Porphyridium cruentum* juga mengandung komponen kimia misalnya lemak, protein, karbohidrat dan abu, biomassa tersebut mungkin dapat dikembangkan untuk pangan fungsional.

Analisis flavonoid menunjukkan bahwa biomassa *Porphyridium cruentum* positif mengandung flavonoid dan kandungan flavonoid ini diduga menghasilkan aktivitas antihiperlipemik. Ho dan Bray (1999) menyatakan bahwa flavonoid memiliki efek penghambatan terhadap enzim α -glukosidase melalui ikatan hidrosilasi dan substitusi pada cincin β . Prinsip penghambatannya adalah menghasilkan penundaan hidrolisis

Tabel 2 Hasil uji fitokimia

Uji fitokimia	Jenis sampel		Standar (warna)
	Biomassa	Polisakarida	
Alkaloid			
Dragendorff	+	-	Endapan merah atau jingga
Meyer	+	-	Endapan putih kekuningan
Wagner	+	-	Endapan coklat
Fenol Hidrokuinon	+	+	Warna hijau atau hijau biru
Flavonoid	+	-	Lapisan amil alkohol berwarna merah/kuning/hijau
Saponin	-	-	Terbentuk busa
Steroid/triterpenoid	-	-	Perubahan dari merah menjadi biru/hijau

Tabel 3 Persentase inhibisi α -glukosidase

Komponen	Persentase inhibisi (%)
Biomassa	33,82
Polisakarida ekstraseluler	71,57
Acarbose	91,00

karbohidrat dan absorpsi glukosa serta menghambat metabolisme sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa.

KESIMPULAN

Biomassa *Porphyridium cruentum* kering yang dipanen pada umur 12 hari memiliki kandungan air, abu, protein, lemak dan karbohidrat berturut-turut 11,67; 38,34; 11,67; 0,33; dan 44,12%. Biomassa *Porphyridium cruentum* mengandung komponen alkaloid, fenol hidrokuinon dan flavonoid; sedangkan polisakarida ekstraseluler hanya mengandung komponen fenol hidrokuinon. Biomassa dan polisakarida ekstraseluler *Porphyridium cruentum* memiliki aktivitas antihiperlipemik dengan nilai inhibisi α -glukosidase berturut-turut 33,82% dan 71,57%.

DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2005. *Official Method of Analysis of The Association of Official Analytical of Chemist*. Arlington: The Association of Official Analytical Chemist, Inc.
- Arad SM, Adda M, Cohen E. 1985. The potential of production of sulfate polysaccharide from *Porphyridium*. *Plant and Soil* 89: 117-127.
- Arad S, Friedman O, Rotem A. 1988. Effect of nitrogen on polysaccharide production in a *Porphyridium* sp. *Applied and environmental microbiology* 54(10): 2411-2414.
- Fuentes MMR, Fernandez GGA, Perez JAS, Guerrero JLG. 2000. Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum*. *Food Chemistry* 70: 345-353.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Penuntun Cara Modern Menganalisis

- Tumbuhan. Padmawinata K dan Soediro I (penerjemah). Bandung: ITB. 354 hal.
- Kusmiyati, Agustini NWS. 2006. Uji aktivitas senyawa antibakteri dari mikroalga *Porphyridium cruentum*. *Jurnal Biodiversitas* 8(1): 48-53.
- Percival E, Foyle RAJ. 1979. The extracellular polysaccharides of *Porphyridium cruentum* and *Porphyridium aeruginosum*. *Carbohydrate Research* 2: 165-176.
- Salamah E, Ayuningrat E, Purwaningsih S. 2008. Penapisan awal komponen bioaktif dari Kijing Taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai senyawa antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2): 119-133.
- Servel MO, Claire C, Derrien A, Colffard L, Holtzhauer YD. 1993. Fatty acid composition of some marine microalgae. *Phycocemistry* 36(3): 691-693.
- Singh S, Arad SA, Richmond A. 2000. Extracellular polysaccharide production in outdoor mass cultures of *Porphyridium* sp. in flat plate glass reactors. *Journal of Applied Phycology* 12: 269-275.
- Sprinkle JR, Hermodson M, Krogman DW. 1986. The amino acid sequence of the cytochromes c553 from *Porphyridium cruentum* and *Aphanizomenon flos-aquae*. *Journal of Photocynthesis Research* 10: 63-73.
- Sugiwati S. 2006. α -Glukosidase inhibitor activity and hypoglycemic effect of *Phaleria macroparva* fruit pericarp extract by oral administration to rats. *Journal of Applied Science* 6(10): 2312-2316.
- Sung HO, Jae GH, Young K, Ji HH, Seung SK. 2009. Lipid production in *Porphyridium cruentum* grown under different culture conditions. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 108(5): 429-434.
- You T, Barnett SM. 2004. Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochemical Engineering Journal* 19: 251-258.