

Pengaruh Penggilingan Menggunakan Planetary Ball Mill terhadap Struktur Morfologi, Kandungan Proksimat dan Foaming Properties Spirulina Bubuk

The Effect of Milling Using Planetary Ball Mill on the Morphological Structure, Proximate Content and Foaming Properties of Spirulina Powder

Bayu Kumayanjati^{1,2}, Prihati Sih Nugraheni¹, dan Siti Ari Budhiyanti¹

¹Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Jalan Flora Gedung A4, Bulaksumur, Yogyakarta 55281, Indonesia

²Pusat Riset Teknologi dan Proses Pangan, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), Jalan Yogya-Wonosari km 31,5, Playen, Gunungkidul, Yogyakarta 55861, Indonesia

*Korespondensi penulis : bayujati.dj@gmail.com

Diterima: 25 Maret 2023; Direvisi: 29 November 2024; Disetujui: 13 Desember 2024

ABSTRAK

Ball milling biasa digunakan untuk memodifikasi ukuran partikel suatu bahan untuk meningkatkan sifat fungsional bahan tersebut. Tujuan dari studi ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggilingan menggunakan *planetary ball mill* terhadap karakteristik spirulina bubuk terutama pada struktur morfologi, proksimat, dan *foaming properties*. Rancangan percobaan yang digunakan adalah rancangan faktorial dengan dua faktor. Penggilingan dilakukan dengan variasi kecepatan yang berbeda (650, 550, & 450 rpm) dan durasi penggilingan yang berbeda (20 & 30 menit). Hasil analisis statistik menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan terhadap ukuran partikel, warna, kadar abu, protein, lemak, dan *foaming capacity* ($p>0,05$), tetapi terdapat perbedaan yang signifikan terhadap kadar air ($p<0,05$). Spirulina bubuk yang dihasilkan dari penelitian ini memiliki rentang ukuran antara $11,929\pm 0,051$ - $12,323\pm 0,016\mu\text{m}$, Hasil pengukuran warna diperoleh nilai L berkisar antara $51,12\pm 1,22$ - $53,76\pm 0,23$. Hasil analisis proksimat spirulina bubuk meliputi kadar air berkisar antara $3,84\pm 0,05$ - $5,26\pm 0,11\%$; kadar abu berkisar $6,11\pm 0,08$ - $6,21\pm 0,07\%$; protein berkisar $47,06\pm 0,72$ - $48,61\pm 0,75\%$; dan lemak berkisar $1,018\pm 0,27$ - $1,762\pm 0,31\%$. Hasil analisis *foaming properties* yang meliputi *foaming capacity* (FC) berkisar $146,00\pm 11,78$ - $153,33\pm 2,49\%$ dan *foaming stability* (FS) setelah 90 menit berkisar $88,68\pm 1,34$ - $97,24\pm 2,66\%$. Perlakuan durasi penggilingan yang lebih lama menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap FS setelah 60 dan 90 menit pengamatan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa penggilingan dengan kecepatan 450 rpm penggilingan dinilai sudah cukup baik untuk menghasilkan spirulina bubuk dengan partikel yang halus, kandungan proksimat yang tetap stabil dan kemampuan *foaming* yang baik.

KATA KUNCI: *planetary ball mill*, struktur morfologi, proksimat, *foaming properties*, spirulina bubuk

ABSTRACT

Ball milling is commonly used to modify the particle size of a material to improve the functional properties of the material. The objective of this study was to determine the effect of milling using a *planetary ball mill* on the characteristics of spirulina powder especially on morphological structure, proximate, and foaming properties. The experimental design used was a factorial design with two factors; milling speeds (650, 550, & 450 rpm) and milling durations (20 & 30 minutes). The results of the statistical analysis indicated that only moisture content exhibited a significant difference ($p<0.05$), with the other particle size, colour, ash content, protein, fat, and foaming properties showing no significant difference ($p>0.05$). The superfine particle size ranged from $11.929\pm 0.051\mu\text{m}$ to $12.323\pm 0.016\mu\text{m}$. L values ranging from 51.12 ± 1.22 to 53.76 ± 0.23 were found for colour measurements. Moisture content ranged from 3.84 ± 0.05 - $5.26\pm 0.11\%$; ash content from 6.11 ± 0.08 - $6.21\pm 0.07\%$; protein from 47.06 ± 0.72 - $48.61\pm 0.75\%$; and fat content from 1.018 ± 0.27 - $1.762\pm 0.31\%$. The results of foaming properties analysis including *foaming capacity* (FC) ranged from 146.00 ± 11.78 - $153.33\pm 2.49\%$ and *foaming stability* (FS) after 90 minutes ranged from 88.68 ± 1.34 - $97.24\pm 2.66\%$. The longer milling duration showed significant differences in FS after 60 and 90 minutes of observation. The results showed that milling at 450 rpm was considered good enough to produce spirulina powder with fine particles, stable proximate content and good foaming ability.

KEYWORDS: *planetary ball mill*, morphological structure, proximate content, foaming properties, spirulina powder

PENDAHULUAN

Arthrospira platensis atau spirulina telah menjadi suplemen makanan dan sumber nutrisi yang sempurna pada abad ke-21. Spirulina kaya akan protein dengan proporsi kandungan asam amino esensial yang direkomendasikan oleh organisasi pangan dan pertanian dunia (FAO) (Anvar & Nowruzi, 2021). FAO (2008) menyebutkan bahwa, kandungan protein spirulina dapat mencapai 70% dari berat kering, tergantung sumber diambilnya. Spirulina juga menjadi sumber vitamin yang cukup lengkap yang meliputi vitamin B1 (thiamine), B2 (riboflavin), B3 (nicotinamide), B6 (pyridoxine), B9 (folic acid), B12 (cyanocobalamin), vitamin C, vitamin D dan vitamin E. Selain itu, spirulina juga mengandung asam lemak esensial sebesar 1,5-2% dari 5-6% total lemak. Spirulina juga kaya akan kalium dan mineral lainnya yang dapat mencapai 7% (dengan rata-rata 2,76-3%) dari berat kering yang meliputi kalsium, kromium, tembaga, zat besi, magnesium, mangan, fosfor, selenium, natrium dan seng. Spirulina banyak tersedia di pasaran sebagai suplemen makanan dalam bentuk bubuk dan tablet (Morais et al., 2021). Spirulina juga telah banyak diaplikasikan pada berbagai jenis produk pangan seperti saus, puding, biskuit, kue, roti, mi, pasta, *smoothies*, es krim, dan minuman kesehatan dengan tujuan untuk meningkatkan kandungan nutrisi ataupun sifat fungsional produk tersebut (Nakib et al., 2019).

Sifat fungsional menggambarkan perilaku suatu bahan selama persiapan dan pengolahan, serta bagaimana bahan tersebut memengaruhi produk akhir dalam hal tampilan, rasa, dan aroma (Awuchi, 2019). Sifat fungsional biasanya meliputi kemampuan *foaming*/pembusaan, emulsifikasi, ataupun kemampuan gelasi. Sifat fungsional tersebut ditentukan oleh adanya protein, karbohidrat, dan lipid serta interaksi di antara ketiganya (Garcia et al., 2018). Salah satu peran protein terhadap sifat fungsional suatu bahan adalah kemampuan pembentukan busa (*foaming properties*). *Foaming properties* suatu bahan biasanya mencakup *foaming capacity* dan *foaming stability*. *Foaming capacity* suatu protein mengacu pada luas permukaan yang dapat dibentuk oleh protein tersebut, sedangkan *foaming stability* merupakan kemampuan protein untuk mempertahankan gelembung udara yang terbentuk (Acquah et al., 2021). Kandungan protein yang tinggi di dalam spirulina mendukung spirulina memiliki kemampuan *foaming* yang cukup baik yang menjadi sifat penting dalam aplikasi produk. Kemampuan *foaming* mengacu pada pembentukan campuran khusus dari protein, udara dan air dalam kondisi tertentu, dan sangat mempengaruhi kualitas

beberapa produk selama pengolahan makanan (Chen et al., 2022). Kemampuan untuk membentuk dan menstabilkan busa merupakan sifat fungsional yang penting, terutama untuk produk kembang gula dan roti seperti kue, pasta, dan roti (Pereira et al., 2018).

Spirulina yang diaplikasikan dalam suatu produk biasanya langsung dalam bentuk biomassa. Aplikasi spirulina dalam bentuk biomassa memungkinkan bioavailabilitasnya menjadi kurang maksimal. Bioavailabilitas makronutrien seperti karbohidrat, protein, dan lemak biasanya sangat tinggi karena lebih dari 90% dari jumlah yang diberikan dapat terserap oleh usus. Di sisi lain, bioavailabilitas mikronutrien (seperti vitamin dan mineral) dan nutraceutical (seperti flavonoid dan karotenoid) dapat sangat bervariasi tergantung pada karakteristik molekuler dan fisikokimianya (Jafari & McClements, 2017). Salah satu cara untuk meningkatkan bioavailabilitas dan sifat fisikokimia suatu bahan adalah dengan membuat ukuran partikel bahan tersebut menjadi lebih kecil/halus.

Pengecilan ukuran partikel terbukti dapat mengoptimalkan reaktifitas permukaan, dan menunjukkan potensi besar untuk meningkatkan sifat sensorik dan fisikokimia suatu bahan dibandingkan dengan bahan curah (Gupta et al., 2016). Studi menunjukkan bahwa bubuk halus yang digiling menunjukkan nilai kelarutan protein yang lebih tinggi, kapasitas menahan air, dan ukuran partikel yang lebih kecil. Serbuk fungsional super halus memberikan manfaat besar dalam hal meningkatkan kualitas produk makanan seperti rasa, meningkatkan aktivitas antioksidan, membuat konstituen aktif lebih mudah dicerna (Piwinska et al., 2016). Penelitian Prasetya et al. (2020), ukuran partikel alga coklat (*Sargassum polycystum*) yang lebih kecil meningkatkan hasil ekstraksi dan aktivitas antibakteri. Penelitian oleh Noviantari et al. (2017), ukuran partikel bubuk *S. polycystum* yang lebih kecil menghasilkan total karotenoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan ukuran bubuk *S. polycystum* yang lebih besar. Penelitian lain oleh Prasedya et al. (2021), juga menunjukkan bahwa ukuran partikel yang lebih kecil dapat meningkatkan konstituen fitokimia dan aktivitas antioksidan makroalga *S. cristaefolium*.

Ball milling menjadi salah satu metode yang cukup efektif untuk menghasilkan sampel dengan ukuran partikel yang sangat halus dengan berbagai keunggulan antara lain sederhana, penggunaan mudah, efisien dan meminimalisir kontak dengan bahan kimia (Abid et al., 2022; Mhadhbi, 2021). *Ball milling* merupakan proses penggilingan yang melibatkan energi tinggi sehingga selama proses

penggilingan akan menimbulkan efek panas akibat tumbukan. Suhu dan tekanan yang diciptakan oleh interaksi antara bola, serta tumbukan antara bola dan dinding vial, dapat menyebabkan transformasi fasa pada suhu tinggi (Abid et al., 2022). Selama penggilingan berlangsung, hampir 80% energi yang dihasilkan pada penggilingan hilang sebagai panas (Schmidt et al., 2016). Kecepatan penggilingan yang semakin tinggi menyebabkan suhu yang semakin tinggi di dalam vial dan secara langsung akan berpengaruh pada sampel yang digiling (Li et al., 2021).

Spirulina merupakan salah satu bahan pangan yang rentan terhadap panas atau suhu tinggi, terutama untuk senyawa bioaktif seperti fikosianin, karotenoid, dan senyawa lainnya. Hasil penelitian Purnama et al. (2020), menunjukkan bahwa serbuk spirulina mengalami degradasi fikosianin sebesar 9,37% pada suhu 40°C dan 57,23% pada suhu 100°C. Penelitian lain oleh Parwani & Singh (2019), menunjukkan bahwa setelah perlakuan suhu 100, 150 dan 200°C selama 5, 10, 15 dan 30 menit, kandungan total karotenoid spirulina menurun hingga 53,5%. Begitupun dengan kandungan klorofil yang menunjukkan penurunan sebesar 40% dan 54% setelah perlakuan suhu 150 dan 200°C.

Penelitian untuk menghasilkan spirulina bubuk dengan ukuran partikel yang halus menggunakan *ball milling* masih jarang dilakukan, sehingga berpotensi besar untuk dikembangkan lebih jauh. Salah satunya yang sudah dilakukan adalah penelitian Neri-Torres et al. (2016) mengenai karakteristik struktur dan fisikokimia dari nanopartikel spirulina dengan menggunakan teknik *High-Resolution Electron Microscopic*. Oleh karena itu, tujuan dari studi ini adalah untuk mengetahui pengaruh penggilingan energi tinggi dengan menggunakan *planetary ball mill* terhadap karakteristik spirulina bubuk yang dihasilkan terutama pada struktur morfologi, proksimat, dan *foaming capacity*.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah spirulina (*A. platensis*) kering dengan ukuran partikel 50-200 µm yang diperoleh dari P.T. Algaepark Indonesia Mandiri, Karangdowo, Klaten, Jawa Tengah. Bahan kimia utama yang digunakan untuk analisis antara lain: akuades, *deionized water*, minyak kelapa, etanol, H₂SO₄ pro analysis Merck 95-97%, NaOH pro analysis Merck, HCl pro analysis Merck 38% dan bahan kimia pendukung lainnya Semua bahan kimia menggunakan reagen

grade analitik dan semua larutan disiapkan dengan menggunakan akuades.

Metode

Proses *milling*

Sampel digiling dengan metode mekanik menggunakan *planetary ball mill* model TRBM-2L dengan menggunakan vial dan bola yang terbuat dari bahan *stainless steel*. Vial berbentuk tabung berpenutup dengan volume 500 ml. Bola terdiri dari 5 kombinasi ukuran diameter yang berbeda yaitu 15, 12, 10, 8, dan 5 mm dengan total berat keseluruhan ±750 g. Sampel diisikan ke dalam vial dengan rasio 1:10 (b/b). Selanjutnya sampel digiling dengan variasi kecepatan dan durasi penggilingan. Kecepatan yang digunakan adalah 650, 550, dan 450 rpm dengan durasi penggilingan 20 dan 30 menit. Untuk menghindari terjadinya panas yang berlebih pada saat penggilingan diberikan jeda selama 10 menit untuk setiap perlakuan (10 menit *milling*, 10 menit jeda). Seperti yang dijelaskan oleh (Chen, 2022), pada perlakuan *ball milling* diperlukan interval / waktu jeda untuk menghindari pemanasan yang berlebihan.

Pengamatan struktur morfologi

Scanning Electron Microscope (SEM)

Pengamatan struktur morfologi dilakukan untuk mengetahui perubahan morfologi pada spirulina bubuk setelah penggilingan. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan SEM (Hitachi SU 3500) pada perbesaran yang sama, yaitu 15000x dengan Vacc 3 kV, dan sebelumnya dilakukan preparasi pelapisan (*coating*) dengan emas (Au) menggunakan alat ion sputter MC1000 (Hitachi Corp.)

Particle Size Analyzer (PSA)

Distribusi ukuran partikel spirulina bubuk diukur dengan *laser particle-size analyzer* (LA-960, Horiba Instruments, USA). Sampel dianalisis dengan sampler cair dan kecepatan sirkulasi dan agitasi masing-masing pada level 6 dan 3. Indeks bias sampel adalah 1,54 dan 1,33 untuk dispersan. Pengukuran dilakukan dalam tiga kali ulangan.

Warna

Nilai warna spirulina bubuk diukur dengan alat kromameter CR-200 (Minolta) untuk mendapatkan nilai L, a, dan b. Nilai L menunjukkan tingkat kecerahan, nilai a negatif menunjukkan warna hijau, nilai b negatif menunjukkan warna biru, dan b positif menunjukkan warna kuning.

Pengukuran proksimat

Pengukuran kandungan proksimat spirulina bubuk meliputi kadar air, kadar abu, lemak dan protein.

Kadar air

Analisis kadar air spirulina bubuk dilakukan menggunakan alat *Moisture Analyzer* OHAUS MB-120 dengan suhu pengujian 105°C dan sampel uji $\pm 0,5$ g.

Kadar abu

Sampel spirulina bubuk ditimbang sebanyak 1-2 g dalam krus porselin, dikeringkan pada suhu 110°C, diarangkan pada 200-300°C sampai asap hilang. Sampel diabukan pada suhu 500-600°C selama 3-4 jam. Selanjutnya sampel didinginkan di dalam desikator dan ditimbang sampai tercapai bobot konstan. Kadar abu dihitung dengan persamaan 1.

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{\text{Bobot sampel setelah diabukan}}{\text{Bobot sampel}} \times 100 \quad (1)$$

Lemak

Analisis lemak spirulina bubuk dilakukan dengan metode Soxhlet menggunakan alat Buchi Fat Extractor E-500. Sebanyak 1-3 g sampel (S) dibungkus dalam kertas saring dan dikeringkan dalam oven suhu 105°C selama 24 jam kemudian ditimbang beratnya (A). Sampel diekstraksi menggunakan solven ether (dietil eter atau petroleum eter). Ekstraksi dilakukan sampai 20 x sirkulasi solven. Selesai ekstraksi sampel dikeringkan kembali dalam oven suhu 105°C dan ditimbang hingga didapatkan berat konstan (B). Kadar lemak dihitung dengan persamaan 2.

$$\text{Kadar Lemak (\%)} = \frac{A - B}{S} \times 100 \quad (2)$$

Protein

Analisis protein spirulina bubuk dilakukan dengan metode Kjeldahl (AOAC, 1995). Sampel sebanyak 1-2 g dicampur dengan katalis (1 g tablet Kjeldahl dan 10 ml asam sulfat) dalam labu Kjeldahl dan dipanaskan dalam *hot plate* hingga diperoleh larutan bening. NaOH 30% digunakan untuk mendistilasi larutan dan 10 mL asam borat 2% dengan indikator PP digunakan untuk menangkap hasil destilat. Selanjutnya dititrasi dengan HCl 0,02 N hingga berwarna merah. Volume HCl hasil titrasi setara dengan nitrogen dalam sampel kemudian dikalikan faktor konversi untuk mengetahui kandungan

protein kasar. Kandungan protein dihitung dengan persamaan 3.

$$\% N = \frac{(\text{ts}-\text{tb})\text{mL} \times N \text{ HCL} \times 14.007 \times 100}{\text{Sampel} \times 1000} \times 100\% \quad (3)$$

Crude protein (%) = %N \times faktor konversi

Dimana: ts = titrasi sampel; tb = titrasi blanko

Pengukuran foaming properties

Pengukuran *foaming properties* spirulina bubuk meliputi *foaming capacity* (kapasitas pembusaan) dan *foaming stability* (stabilitas busa) yang ditentukan dengan merujuk pada metode Ghribi et al. (2015) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 40 ml dispersi sampel (1 mg/ml) dalam air destilata dihomogenisasi dengan kecepatan tinggi (10000 rpm) selama 3 menit. Campuran segera dipindahkan ke dalam gelas ukur untuk dicatat volumenya. Volume dicatat sebelum dan sesudah dihomogenasi. *Foaming capacity* dinyatakan sebagai peningkatan volume (%) setelah dihomogenisasi, dihitung menggunakan persamaan 4.

$$\text{Peningkatan volume (\%)} = \frac{V_2 - V_1}{V_1} \times 100 \quad (4)$$

Dimana V1 = volume awal larutan; V2 = volume larutan setelah dihomogenasi

Untuk penentuan *foaming Stability*, perubahan volume busa dalam gelas ukur dicatat pada interval penyimpanan 30, 60, dan 90 menit. Kemudian dihitung dengan persamaan 5.

$$\text{Foaming stability (\%)} = \frac{\text{volume setelah waktu } t}{\text{volume foaming awal}} \times 100 \quad (5)$$

Analisis data

Rancangan percobaan yang dilakukan adalah rancangan acak lengkap faktorial 2x3 (2 faktor), faktor pertama adalah durasi dengan 2 taraf (20 dan 30 menit) dan faktor kedua adalah kecepatan dengan 3 taraf (450, 550, 650 rpm). Data diperoleh dalam 3 ulangan dan ditampilkan sebagai nilai rata-rata \pm SD. Data selanjutnya dianalisis statistik menggunakan analisis ragam dengan dua faktor (*ANOVA: Two-Factor with Replication*) menggunakan *software* IBM SPSS Statistics 24. Pengambilan keputusan ditentukan, apabila diperoleh hasil signifikansi $p < 0,05$ maka terdapat perbedaan signifikan antar perlakuan yang kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut Beda Nyata

Terkecil / *Least Significance Different* (LSD) untuk mengetahui pasangan perlakuan yang berbeda. Analisis juga dilakukan pada spirulina kering (sebelum digiling) yang digunakan sebagai nilai/kontrol pembandingan, namun tidak dimasukkan dalam perhitungan analisis faktorial.

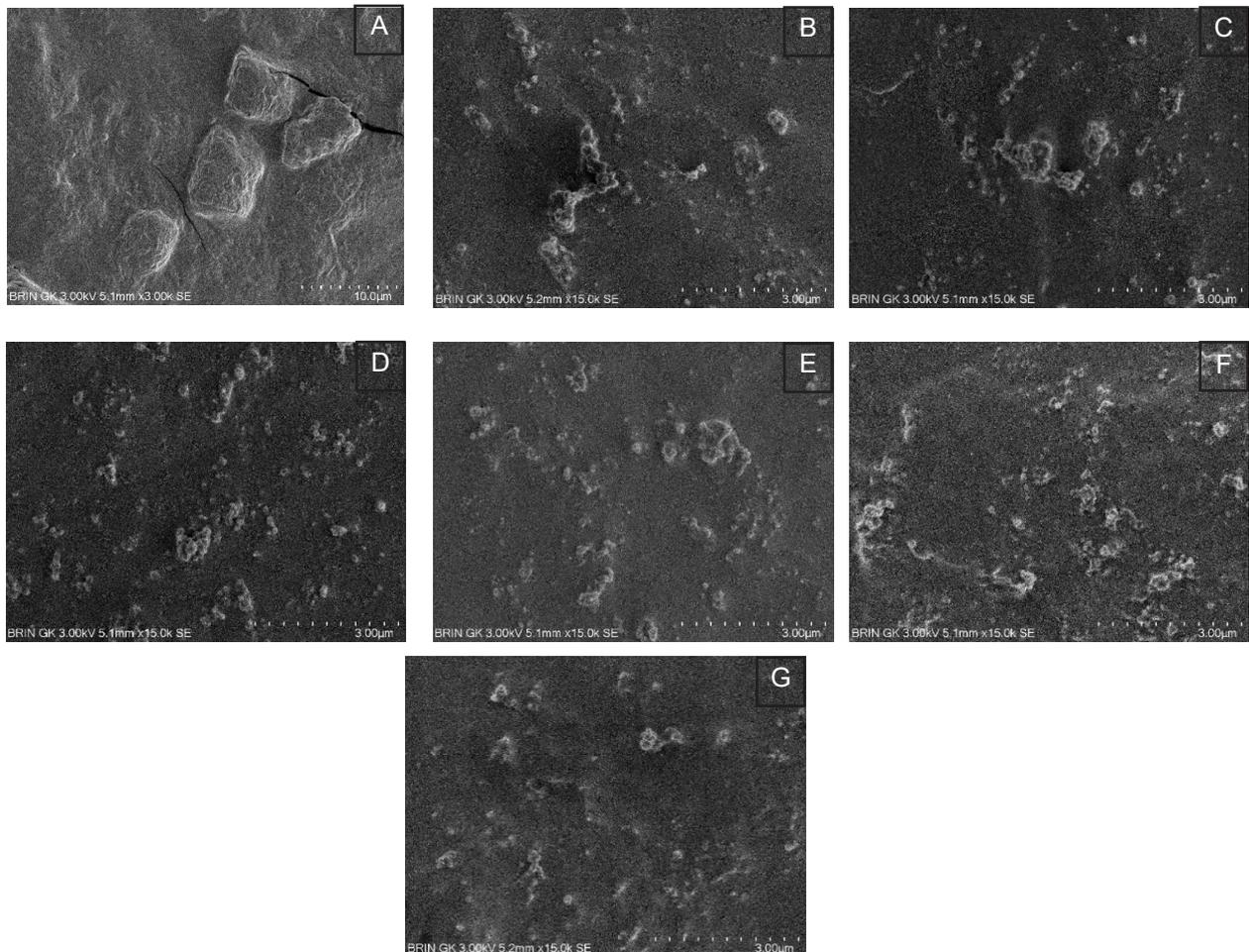
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis Morfologi

Scanning Electron Microscope (SEM)

Pengamatan morfologi spirulina bubuk hasil penggilingan dilakukan pada perbesaran 15000x. Gambar 1A adalah gambar SEM dari partikel

spirulina sebelum proses *milling*, sedangkan gambar 1B – 1G adalah gambar SEM dari partikel spirulina setelah proses *milling*. Hasil pengamatan menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara spirulina kering sebelum digiling dan sesudah digiling menggunakan *planetary ball mill*. Partikel spirulina yang mulanya berukuran lebih besar dengan permukaan yang halus dan seragam berubah menjadi partikel-partikel yang lebih kecil/halus dengan permukaan yang tidak rata atau tidak beraturan. Hal tersebut menunjukkan bahwa telah terjadi kerusakan mekanis pada spirulina bubuk yang diakibatkan oleh tumbukan selama penggilingan berlangsung. Sun et al. (2016) menjelaskan, selama penggilingan akan terjadi kerusakan mekanis atau transformasi dari struktur teratur menjadi



Gambar 1. SEM mikrograf spirulina bubuk sebelum milling (A), setelah milling 650 rpm 20 menit (B), 650 rpm 30 menit (C), 550 rpm 20 menit (D), 550 rpm 30 menit (E), 450 rpm 20 menit (F), 450 rpm 30 menit (G). Pengukuran dilakukan pada perbesaran 15000x.

Figure 1. SEM micrographs of spirulina powder before milling (A), after milling 650 rpm 20 minutes (B), 650 rpm 30 minutes (C), 550 rpm 20 minutes (D), 550 rpm 30 minutes (E), 450 rpm 20 minutes (F), 450 rpm 30 minutes (G). 15000x magnification.

struktur tidak teratur melalui putusannya ikatan antar molekul. Penggilingan ekstensif memecah partikel kasar menjadi pecahan yang lebih halus. Hasil serupa ditunjukkan pada penelitian Chen et al., (2022), bahwa ukuran partikel protein oyster yang digiling menggunakan *ball milling* berkurang secara signifikan menjadi partikel yang lebih kecil dengan bentuk permukaan yang tidak rata. Hal ini dapat diakibatkan oleh gesekan dan akumulasi energi yang terjadi selama tumbukan.

Particle size analyzer

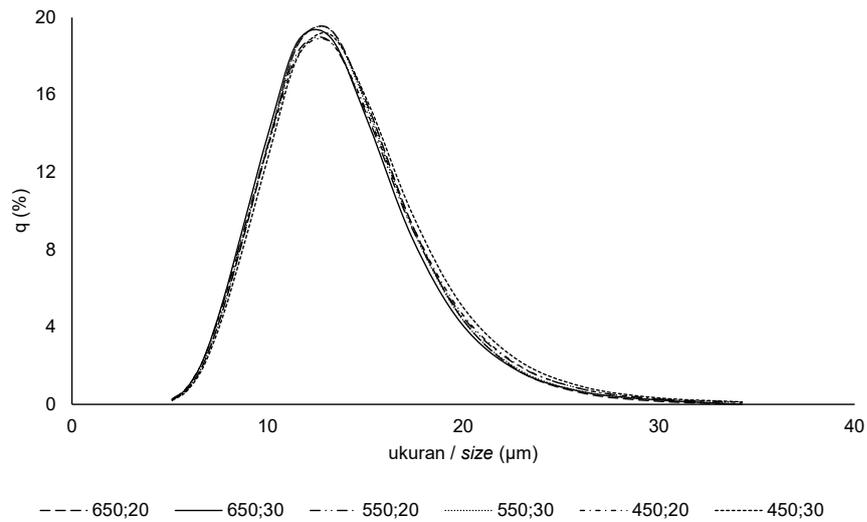
Particle size analyzer digunakan untuk mengukur ukuran partikel spirulina bubuk setelah penggilingan. Hasil pengukuran partikel dari spirulina bubuk tersaji pada Tabel 1. menunjukkan nilai distribusi partikel D10, D50, dan D90. Menurut Maguire et al., (2018), nilai D yang ditetapkan pada 10%, 50% dan 90% (D10, D50 dan D90) memberikan informasi distribusi statistik yang berharga dalam luasnya rentang ukuran partikel, dan menekankan kemungkinan potensi agregat partikel dalam setiap ambang batas. Nilai-nilai ini mencerminkan diameter partikel berada pada ukuran tertentu yang mewakili 10%, 50% atau 90% dari keseluruhan populasi. Ditambahkan oleh Xu et al. (2021), bahwa D50 adalah ukuran partikel rata-rata, D10 adalah diameter ekuivalen pada volume kumulatif 10% dan D90 adalah diameter ekuivalen pada volume kumulatif 90%.

Berdasarkan analisis statistik juga menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($P>0,05$) pada faktor utama durasi dan kecepatan, juga tidak terjadi interaksi yang signifikan antara kedua faktor ($p>0,05$). Tabel 1 menunjukkan bahwa ukuran partikel semakin kecil seiring bertambahnya kecepatan dan durasi penggilingan, meskipun tidak berbeda nyata secara statistik. Wu et al. (2018) menjelaskan, bahwa peningkatan kecepatan penggilingan menyebabkan pergerakan partikel meningkat dan memicu tabrakan yang lebih besar antar partikel, sehingga ukuran partikel menjadi lebih kecil. Nilai distribusi ukuran partikel spirulina bubuk setelah penggilingan diperoleh nilai rata-rata terkecil sebesar $11,93\pm 0,051\mu\text{m}$ dan rata-rata terbesar $12,32\pm 0,016\mu\text{m}$ (ukuran partikel awal sebelum digiling berkisar antara 50-200 μm). Perlakuan penggilingan dengan kecepatan 650 rpm dengan durasi 30 menit menghasilkan ukuran partikel terkecil sebesar $11,93\pm 0,051\mu\text{m}$, meskipun tidak berbeda nyata dengan perlakuan 450 rpm dan 550 rpm. Nilai ukuran partikel tersebut dapat dikategorikan dalam ukuran partikel yang sangat halus. Seperti penjelasan dari Sun et al. (2016) dan Xu et al. (2021), bahwa ukuran partikel sering digunakan untuk mengklasifikasikan, mengkategorikan, atau mengkarakterisasi suatu bubuk. Biasanya, ukuran partikel kurang dari 10-25 μm didefinisikan sebagai bubuk makanan yang sangat halus, dan memiliki kelarutan, dispersibilitas, dan kemampuan mengalir yang lebih tinggi.

Tabel 1. Ukuran partikel spirulina bubuk pada variasi kecepatan dan durasi penggilingan
Table 1. Particle size of spirulina powder at various rotation speeds and durations milling

Kecepatan/ Speed (rpm)	Durasi/ Duration (Menit/ Minutes)	Ukuran Partikel/Particle Size (μm)			
		Rata-rata/Mean	D(10)	D(50)	D(90)
450	20	12.32 ± 0.016^{aA}	8.04 ± 0.014^{aA}	11.84 ± 0.030^{aA}	17.10 ± 0.056^{aA}
	30	12.04 ± 0.056^{aA}	7.85 ± 0.004^{aA}	11.59 ± 0.001^{aA}	16.78 ± 0.011^{aA}
550	20	12.07 ± 0.016^{aA}	7.96 ± 0.004^{aA}	11.64 ± 0.004^{aA}	16.67 ± 0.004^{aA}
	30	12.05 ± 0.041^{aA}	7.86 ± 0.013^{aA}	11.59 ± 0.024^{aA}	16.83 ± 0.040^{aA}
650	20	12.04 ± 0.016^{aA}	7.95 ± 0.004^{aA}	11.64 ± 0.003^{aA}	16.64 ± 0.002^{aA}
	30	11.93 ± 0.051^{aA}	7.83 ± 0.049^{aA}	11.48 ± 0.036^{aA}	16.61 ± 0.060^{aA}

*Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kapital yang sama pada perlakuan durasi yang berbeda dengan perlakuan kecepatan yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$); Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kecil yang sama pada perlakuan durasi yang sama dengan perlakuan kecepatan yang berbeda menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$)./*Mean values followed by the same uppercase superscript in different duration with the same speed indicate no significant differences ($p>0.05$); Mean values followed by the same lowercase superscript in the same duration with different speed indicate no significant differences ($p>0.05$).



Gambar 2. Distribusi ukuran partikel spirulina bubuk pada variasi kecepatan dan durasi penggilingan
 Figure 2. Particle size distribution of spirulina powder at various rotation speeds and times milling

Warna

Pengukuran warna spirulina bubuk meliputi nilai L, a dan b. Hasil pengukuran warna spirulina bubuk tersaji pada Tabel 2.

Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada faktor utama durasi dan tidak ada perbedaan signifikan ($p > 0,05$) pada kecepatan, juga tidak terjadi interaksi yang signifikan antara kedua faktor ($p > 0,05$). Nilai L dari semua perlakuan kecepatan dan durasi *milling* menunjukkan nilai yang hampir sama (berkisar antara $51,12 \pm 1,22$ - $53,76 \pm 0,23$), akan tetapi

dari tabel 2 dapat dilihat bahwa ada perubahan nilai L yang cenderung meningkat seiring durasi penggilingan yang lebih lama (menjadi lebih cerah) bila dibandingkan dengan kontrol. Warna yang lebih cerah tersebut bisa disebabkan karena perubahan partikel yang menjadi lebih kecil. Seperti pada penelitian Xu et al. (2021), yang menjelaskan bahwa kecerahan bubuk berkorelasi negatif dengan ukuran partikel. Oleh karena itu, partikel yang lebih kecil akan meningkatkan luas permukaan relatif, meningkatkan efek reflektif dan nilai kecerahan. Hasil berbeda dari penelitian Zhang et al. (2014), mengenai kitosan bubuk hasil ball-milling dimana

Tabel 2. Pengukuran warna spirulina bubuk pada variasi kecepatan dan durasi penggilingan
 Table 2. Measuring the color of spirulina powder at various speeds and durations milling

Kecepatan/Speed (rpm)	Durasi/Time (menit/minutes)	L*	a*	b*
450	20	51.46±0.86 ^{aA}	-16.53±0.72 ^{aA}	11.81±0.73 ^{aA}
	30	53.71±0.23 ^{aB}	-15.63±0.22 ^{abA}	11.79±0.33 ^{aB}
550	20	52.03±1.29 ^{aA}	-15.74±0.91 ^{aA}	14.58±0.96 ^{bA}
	30	52.69±1.08 ^{aA}	-16.54±0.89 ^{aA}	14.10±0.83 ^{bB}
650	20	51.60±1.22 ^{aA}	-15.76±0.79 ^{aA}	12.39±0.83 ^{aA}
	30	53.07±1.22 ^{aB}	-14.64±0.65 ^{bA}	16.34±0.77 ^{cA}
Kontrol / control		44.323±0.58	-15.703±0.37	7.988±0.29

*Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kapital yang berbeda pada perlakuan durasi yang berbeda dengan perlakuan kecepatan yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$); Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kecil yang berbeda pada perlakuan kecepatan yang berbeda dengan perlakuan durasi yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)/**Mean values followed by different uppercase superscript in different duration with the same speed indicate significant differences ($p < 0.05$); Mean values followed by different lowercase superscript in different speed with the same duration indicate significant differences ($p < 0.05$)*

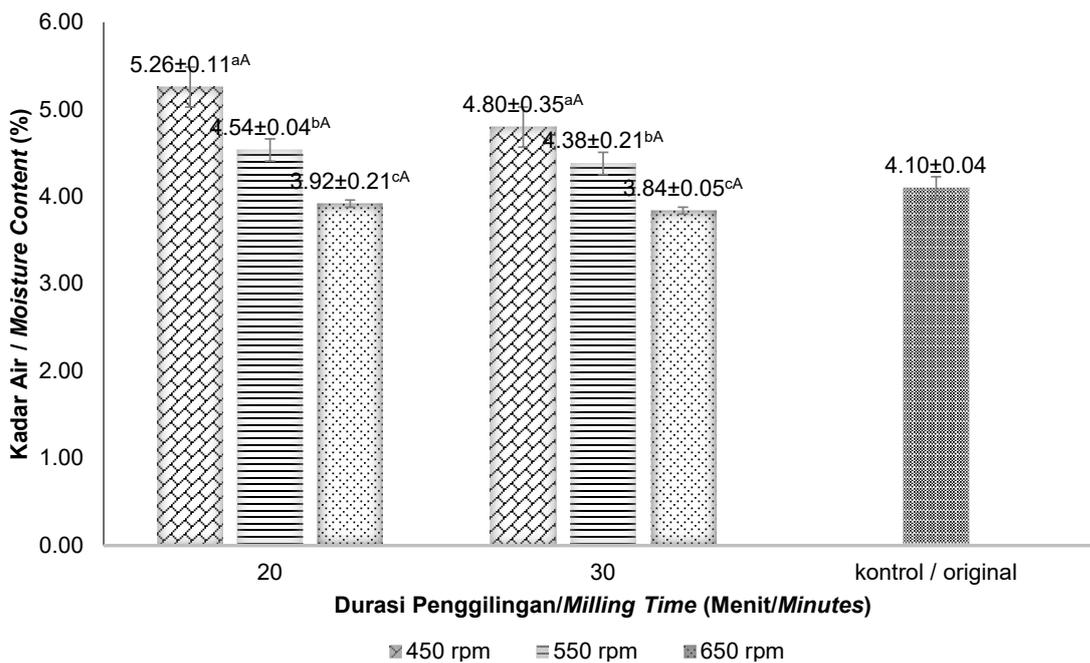
didapatkan hasil yang lebih gelap dibandingkan dengan kontrol. Zhang et al. (2014), menjelaskan bahwa dalam proses ball-milling, partikel-partikel akan mengalami gaya ekstrusi dan gesekan yang parah, sehingga insiden tumbukan antar molekul menjadi meningkat dan sebagai konsekuensinya akan menimbulkan efek kecoklatan.

Kandungan Proksimat

Kadar air

Analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) pada faktor utama kecepatan dan tidak ada perbedaan signifikan pada faktor utama durasi ($p > 0,05$), tetapi terjadi interaksi yang signifikan antara kedua faktor ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan durasi memberikan pengaruh yang berbeda pada setiap taraf perlakuan kecepatan, begitupun sebaliknya. Hasil kadar air spirulina bubuk yang diperoleh berkisar antara $3,84 \pm 0,05$ - $5,26 \pm 0,11$ %. Penggilingan dengan kecepatan 650 rpm selama 30 menit menghasilkan nilai kadar air paling kecil

yaitu $3,84 \pm 0,05$ %. Sedangkan penggilingan dengan kecepatan 450 rpm selama 20 menit menghasilkan nilai kadar air paling besar yaitu $5,26 \pm 0,11$ %. Kecepatan penggilingan yang semakin tinggi dan durasi penggilingan yang lebih lama menurunkan nilai kadar air spirulina bubuk. Hal ini dapat terjadi karena semakin tinggi kecepatan dan semakin lama durasi penggilingan akan menyebabkan timbulnya panas yang lebih tinggi di dalam vial. Panas tersebut menyebabkan kadar air bahan menjadi berkurang. Hal ini sesuai dengan penjelasan Vogel et al. (2018), input energi mekanik tidak hanya digunakan untuk menghancurkan partikel sampel, tetapi juga menyebabkan kenaikan suhu, yang kemungkinan besar disebabkan oleh gaya gesekan. Peningkatan suhu ini dipengaruhi oleh kecepatan putaran serta durasi perlakuan. Hasil penelitian Vogel et al. (2018), juga menunjukkan bahwa selama suhu akhir di bawah 60°C , tidak terjadi perubahan substansial pada kadar air. Akan tetapi, perlakuan intensif dan peningkatan suhu melebihi 80°C menyebabkan penurunan kadar air di bawah 10%. Penelitian lain mengenai tepung ikan lele yang dilakukan oleh



* Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kapital yang sama pada perlakuan durasi yang berbeda dengan perlakuan kecepatan yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0,05$); Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kecil yang berbeda pada perlakuan kecepatan yang berbeda dengan perlakuan durasi yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$); *Mean values followed by the same uppercase superscript in different duration with the same speed indicate no significant differences ($p > 0.05$); Mean values followed by different lowercase superscript in different speed with the same duration indicate significant differences ($p < 0.05$).

Gambar 3. Kadar air spirulina bubuk pada variasi kecepatan dan durasi penggilingan
 Figure 3. Moisture content of spirulina powder at various rotation speeds and times milling

Srimiati et al. (2022), menunjukkan bahwa suhu pada saat proses penggilingan mungkin menjadi penyebab menurunnya kadar air pada tepung ikan lele. Pada saat proses *milling*, bola akan saling bertabrakan dan bergesekan. Hal ini akan menimbulkan reaksi mekanokimia yang melepaskan energi dalam bentuk panas dan menaikkan suhu sistem. Peningkatan suhu sistem menyebabkan kandungan air tepung menguap.

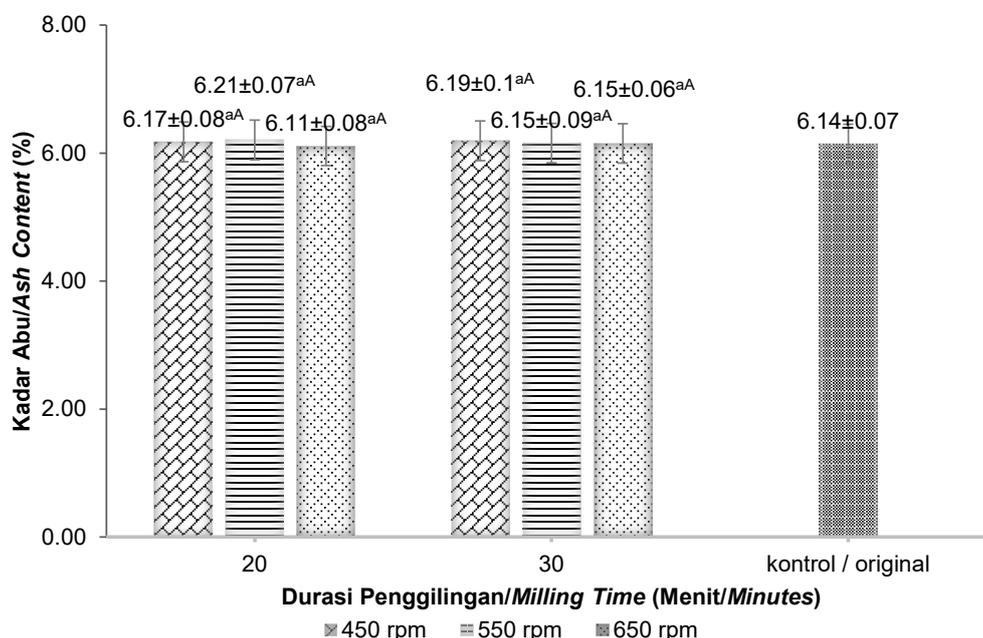
Kadar abu

Hasil analisis statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) pada faktor utama durasi dan kecepatan, juga tidak terjadi interaksi yang signifikan antara kedua faktor ($P>0,05$). Nilai kadar abu spirulina bubuk dari semua perlakuan cenderung hampir sama dengan kontrol yaitu berkisar $6,11\pm0,08$ - $6,21\pm0,07\%$. Nilai tersebut sesuai dengan penelitian Lafarga et al. (2020) sebesar 6,2%, juga penelitian lain sebesar 5,93% (Raczyk et al., 2022), $7,68\pm0,04\%$ (Ramírez-Rodrigues et al., 2021). Hasil tersebut menunjukkan bahwa perbedaan kecepatan putaran dan durasi penggilingan tidak berpengaruh pada kadar abu spirulina bubuk. Hal ini sesuai dengan pernyataan dari Setyawan et al. (2023), abu utamanya terdiri

dari karbon, dengan sejumlah kecil unsur lain seperti kalsium, magnesium, kalium, dan fosfor yang tidak terdegradasi selama pembakaran atau penggilingan fisik, sehingga proses penggilingan tidak mempengaruhi kadar abu.

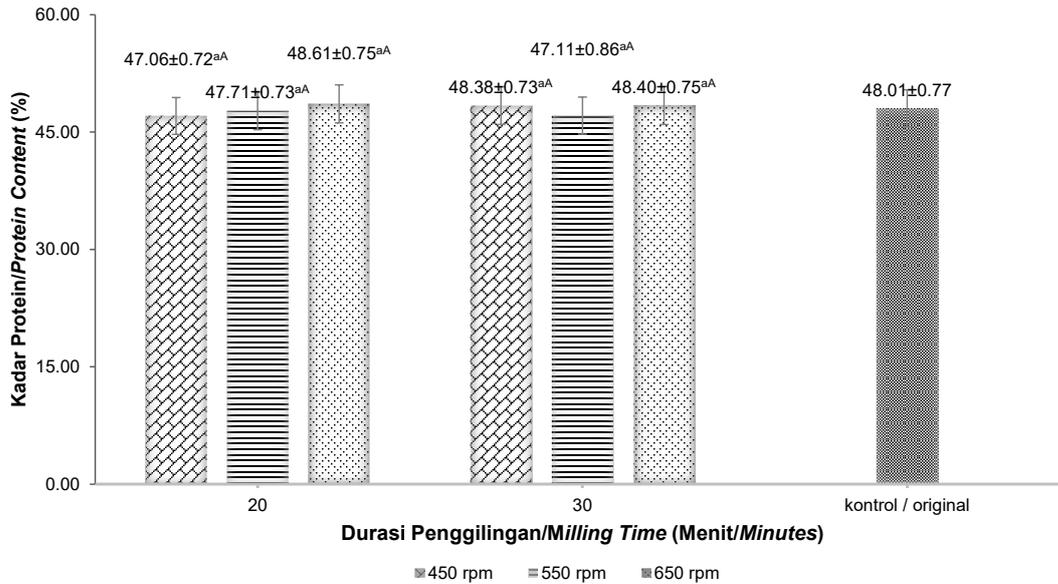
Kadar Protein

Hasil analisis kadar protein spirulina bubuk pada Gambar 5 menunjukkan tidak adanya perubahan nilai yang signifikan. Berdasarkan analisis statistik juga menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) pada faktor utama durasi dan kecepatan, juga tidak terjadi interaksi yang signifikan antara kedua faktor ($p>0,05$). Nilai rata-rata kadar protein dari semua perlakuan relatif hampir sama dengan kontrol ($48,01\pm0,77\%$) yaitu berkisar antara $47,06\pm0,72$ - $48,61\pm0,75\%$. Nilai tersebut senilai dengan yang dikemukakan oleh Vo et al. (2015), kandungan protein spirulina berkisar antara 46-63% dari berat kering. Hal tersebut menunjukkan bahwa perbedaan kecepatan putaran dan durasi penggilingan tidak berdampak signifikan terhadap kadar protein spirulina bubuk. Hasil yang sama juga diperoleh pada penelitian (Xu et al., 2021), penggilingan superhalus tidak memberikan pengaruh signifikan terhadap kandungan protein bubuk dedak.



*Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kapital yang sama pada perlakuan durasi yang berbeda dengan perlakuan kecepatan yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$); Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kecil yang sama pada perlakuan durasi yang sama dengan perlakuan kecepatan yang berbeda menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$)/ *Mean values followed by the same uppercase superscript in different duration with the same speed indicate no significant differences ($p>0.05$); Mean values followed by the same lowercase superscript in the same duration with different speed indicate no significant differences ($p>0.05$).

Gambar 4. Kadar abu spirulina bubuk pada variasi kecepatan dan durasi penggilingan
 Figure 4. Ash content of spirulina powder at various rotation speeds and times milling



*Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kapital yang sama pada perlakuan durasi yang berbeda dengan perlakuan kecepatan yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$); Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kecil yang sama pada perlakuan durasi yang sama dengan perlakuan kecepatan yang berbeda menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$)/ *Mean values followed by the same uppercase superscript in different duration with the same speed indicate no significant differences ($p>0.05$); Mean values followed by the same lowercase superscript in the same duration with different speed indicate no significant differences ($p>0.05$).

Gambar 5. Kadar protein spirulina bubuk pada variasi kecepatan dan durasi penggilingan

Figure 5. Protein content of spirulina powder at various rotation speeds and times milling

Hasil analisis menunjukkan adanya sedikit penurunan pada kadar protein meskipun tidak signifikan. Hal ini kemungkinan dipengaruhi oleh perubahan partikel yang menjadi lebih kecil. Seperti pada penelitian Srimati et al. (2022), kandungan protein tepung lele (ukuran nano) jauh lebih rendah dibandingkan tepung dengan ukuran non-nano. Hasil ini dikuatkan juga oleh penelitian Ahmed et al. (2016), bahwa tepung *chesnut* dengan ukuran partikel lebih kecil mengandung protein yang jauh lebih sedikit.

Kadar lemak

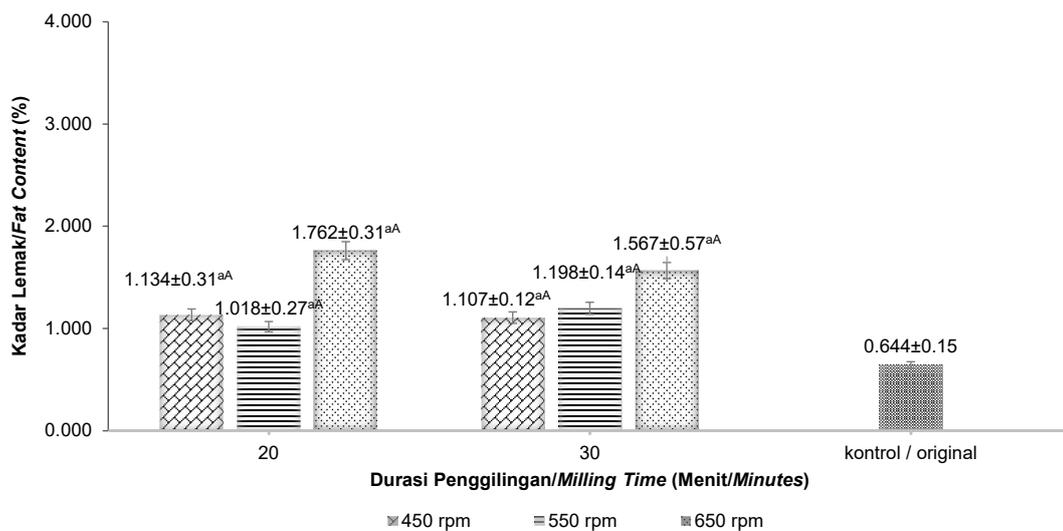
Gambar 6 menunjukkan peningkatan kadar lemak dari semua perlakuan dibandingkan dengan kontrol, akan tetapi berdasarkan uji statistik menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) pada faktor utama durasi dan kecepatan, juga tidak terjadi interaksi yang signifikan antara kedua faktor ($p>0,05$). Nilai kadar lemak spirulina bubuk berkisar antara $1,018\pm0,27$ - $1,762\pm0,31\%$. Nilai tersebut lebih rendah dari yang ditulis oleh Vo et al. (2015) yang berkisar 4- 9% dari berat kering. Gambar 6 juga menggambarkan bahwa kecepatan rotasi yang semakin tinggi menyebabkan kenaikan kadar lemak spirulina bubuk. Hal ini dapat dikaitkan dengan perubahan partikel yang lebih

kecil, sehingga lemak yang terekstrak menjadi lebih besar. Ahmed et al. (2015) menjelaskan bahwa alasan yang memungkinkan terjadinya peningkatan kandungan lemak pada partikel yang lebih kecil dapat disebabkan oleh paparan pelarut yang lebih luas permukaannya selama ekstraksi, sehingga pelarut dapat melarutkan lemak lebih maksimal pada partikel yang lebih kecil.

Foaming properties

Analisis *foaming properties* dilakukan pada dua parameter yaitu, *foaming capacity* dan *foaming stability*. Hasil analisis *foaming capacity* dan *foaming stability* dari spirulina bubuk dengan perlakuan durasi dan kecepatan penggilingan disajikan pada Tabel 3.

Berdasarkan analisis statistik terhadap nilai *foaming capacity* (FC) dan *foaming stability* (FS) spirulina bubuk pada 30 menit pertama, tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p>0,05$) pada faktor durasi maupun kecepatan, juga tidak terjadi interaksi yang signifikan antara kedua faktor ($p>0,05$). Analisis statistik menunjukkan perbedaan signifikan ($p<0,05$) pada faktor utama durasi terhadap nilai FS setelah 60 menit dan 90 menit pengamatan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa durasi penggilingan



*Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kapital yang sama pada perlakuan durasi yang berbeda dengan perlakuan kecepatan yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$); Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kecil yang sama pada perlakuan durasi yang sama dengan perlakuan kecepatan yang berbeda menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0,05$)/*Mean values followed by the same uppercase superscript in different duration with the same speed indicate no significant differences ($p>0.05$); Mean values followed by the same lowercase superscript in the same duration with different speed indicate no significant differences ($p>0.05$).*

Gambar 6. Kadar lemak spirulina bubuk pada variasi kecepatan dan durasi penggilingan

Figure 6. Fat content of spirulina powder at various rotation speeds and times milling

yang lebih lama (30 menit) menghasilkan nilai FS yang lebih stabil. Perlakuan kecepatan 450 dan 550rpm menunjukkan nilai FS yang lebih stabil dibandingkan dengan perlakuan kecepatan 650rpm pada masing-masing durasi penggilingan. Tabel 3 menunjukkan nilai FC spirulina bubuk berkisar antara 146,00±11,78-153,33±2,49%, sedangkan

FS setelah 90 menit berkisar antara 88,68±1,34-97,24±2,66%. Hasil tersebut jauh lebih tinggi dari penelitian yang telah dilakukan oleh Pereira et al. (2018) dimana nilai FC spirulina sebesar <80% dengan nilai FS sebesar 80% pada 5 menit awal kemudian menurun hingga <40% setelah 60 menit. Penelitian lain oleh Benelhadj et al. (2016), dengan

Tabel 3. Nilai foaming capacity dan foaming stability spirulina bubuk

Table 3. Foaming capacity and foaming stability value of spirulina powder

Kecepatan/ Speed (rpm)	Durasi/Time (menit/minutes)	Foaming Capacity (%)	Foaming Stability (%)		
			30'	60'	90'
450	20	151.33±4.99 ^{aA}	98.95±0.96 ^{aA}	96.27±2.43 ^{aA}	96.68±1.31 ^{bA}
	30	144.00±19.87 ^{aA}	98.14±0.66 ^{aA}	97.54±1.66 ^{aA}	96.95±3.07 ^{aA}
550	20	144.00±8.49 ^{aA}	97.58±1.05 ^{aA}	95.28±1.97 ^{aA}	94.99±2.34 ^{bA}
	30	150.67±23.80 ^{aA}	98.96±0.26 ^{aA}	98.37±0.14 ^{aB}	97.24±2.66 ^{aA}
650	20	153.33±2.49 ^{aA}	97.88±1.37 ^{aA}	93.68±0.06 ^{aA}	88.68±1.34 ^{aA}
	30	146.00±11.78 ^{aA}	97.06±0.89 ^{aA}	97.51±1.10 ^{aB}	97.16±1.56 ^{aB}

*Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kapital yang berbeda pada perlakuan durasi yang berbeda dengan perlakuan kecepatan yang sama menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan ($p<0,05$); Nilai rata-rata yang diikuti dengan superskrip huruf kecil yang berbeda pada perlakuan kecepatan yang berbeda dengan perlakuan durasi yang sama menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p<0,05$)/*Mean values followed by different uppercase superscript in different duration with the same speed indicate significant differences ($p<0.05$); Mean values followed by different lowercase superscript in different speed with the same duration indicate significant differences ($p<0.05$).*

sampel isolat protein spirulina didapatkan nilai FC >200% pada pH 10. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ukuran partikel yang lebih kecil dapat menaikkan nilai FC dan FS, seperti pada penelitian Wu et al. (2018) durasi penggilingan dengan *ball mill* dari 0 ke 6 menit menaikkan nilai FC dari $46.08 \pm 6.12\%$ ke $65.11 \pm 1.05\%$.

Nilai FC dan FS yang stabil dapat terkait dengan kandungan protein spirulina bubuk yang cenderung stabil, sehingga kemampuan *foaming* spirulina bubuk juga tetap stabil. Kemampuan *foaming* suatu bahan sejalan dengan kandungan protein bahan tersebut. Menegotto et al. (2019), menjelaskan bahwa kemampuan busa pada protein akan meningkat seiring dengan kandungan protein hingga nilai maksimum tercapai, dengan demikian, kekencangan dan viskositas busa meningkat, dan juga meningkatkan stabilitas. Namun, konsentrasi protein yang tinggi akan mendorong persaingan antar molekul protein untuk adsorpsi pada antarmuka udara-air atau minyak-air, dan komposisi lapisan protein yang terbentuk pada antarmuka bergantung pada aktivitas permukaan relatif komponen protein dalam campuran. Narsimhan dan Xiang (2018), juga menjelaskan bahwa, molekul protein bersifat amfifilik dan mampu menstabilkan antarmuka udara-air (busa). Interaksi protein non-kovalen pada antarmuka menciptakan film dengan tegangan rendah, yang mendukung pembentukan dan stabilitas busa. Di dalam struktur protein terdapat struktur β -turn, umumnya β -turn terdiri dari asam amino hidrofilik. Peningkatan kandungan β -turn kondusif untuk meningkatkan interaksi antara molekul protein dan air, yang dapat meningkatkan kemampuan pembentukan gelembung (Chen et al., 2022).

KESIMPULAN

Penggunaan *planetary ball mill* dinilai cukup efektif untuk menghasilkan bubuk spirulina dengan ukuran partikel yang sangat halus. Analisis SEM dan pengukuran partikel menunjukkan perubahan ukuran partikel awal yang lebih besar (sebelum digiling) menjadi ukuran partikel yang lebih kecil/halus, meskipun tidak ada perbedaan yang signifikan antar kombinasi perlakuan. Kombinasi perlakuan penggilingan tidak berpengaruh signifikan terhadap kandungan protein, lemak, dan kadar abu, akan tetapi berpengaruh signifikan terhadap kadar air. Perlakuan penggilingan tidak berpengaruh signifikan terhadap *foaming capacity* dan *foaming stability* pada 30 menit pertama, akan tetapi nilai *foaming capacity* dan *foaming stability* dari spirulina bubuk meningkat jika dibandingkan

dengan kontrol. Durasi penggilingan yang lebih lama menunjukkan perbedaan yang signifikan terhadap *foaming stability* setelah 60 menit dan 90 menit pengamatan. Berdasarkan hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa penggilingan dengan kecepatan 450 rpm dinilai sudah cukup baik untuk menghasilkan spirulina bubuk dengan partikel yang halus, kandungan proksimat yang tetap stabil dan kemampuan *foaming* yang baik pula. Akan tetapi, masih ada peluang untuk lebih mengoptimalkan durasi penggilingan untuk menghasilkan spirulina bubuk dengan kemampuan fungsional yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didukung oleh fasilitas riset, dan dukungan ilmiah serta teknis dari Laboratorium Karakterisasi Lanjut Yogyakarta, Laboratorium Karakterisasi Lanjut Serpong di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), dan juga didukung oleh fasilitas riset dari Laboratorium Riset, Departemen Perikanan, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada.

DAFTAR PUSTAKA

- Abid, N., Khan, A. M., Shujait, S., Chaudhary, K., Ikram, M., Imran, M., Haider, J., Khan, M., Khan, Q., & Maqbool, M. (2022). Synthesis of nanomaterials using various top-down and bottom-up approaches, influencing factors, advantages, and disadvantages: A review. In *Advances in Colloid and Interface Science* (Vol. 300). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102597>
- Acquah, C., Ekezie, F. G., & Udenigwe, C. C. (2021). Potential applications of microalgae-derived proteins and peptides in the food industry. In *Cultured Microalgae for the Food Industry: Current and Potential Applications* (pp. 97–126). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821080-2.00011-3>
- Ahmed, J., Al-Attar, H., & Arfat, Y. A. (2016). Effect of particle size on compositional, functional, pasting and rheological properties of commercial water chestnut flour. *Food Hydrocolloids*, 52, 888–895. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.08.028>
- Ahmed, J., Al-Jassar, S., & Thomas, L. (2015). A comparison in rheological, thermal, and structural properties between Indian Basmati and Egyptian Giza rice flour dispersions as influenced by particle size. *Food Hydrocolloids*, 48, 72–83. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.02.012>
- Anvar, A. A., & Nowruzi, B. (2021). Bioactive Properties of Spirulina: A Review. *Microbial Bioactives*, 4(1), 134–142. <https://doi.org/10.25163/microbioacts.412117B0719110521>
- Awuchi, C. G., Igwe, V. S., & Echeta, C. K. (2019). The Functional Properties Of Foods And Flours.

- International Journal of Advanced Academic Research. Sciences, Technology and Engineering*. ISSN: 2488-9849. Vol. 5, Issue 11
- Becker, E. W. (2007). Micro-algae as a source of protein. In *Biotechnology Advances* (Vol. 25, Issue 2, pp. 207–210). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2006.11.002>
- Benelhadj, S., Gharsallaoui, A., Degraeve, P., Attia, H., & Ghorbel, D. (2016). Effect of pH on the functional properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) platensis protein isolate. *Food Chemistry*, *194*, 1056–1063. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.08.133>
- Chen, X., Guo, M., Sang, Y., & Sun, J. (2022). Effect of ball-milling treatment on the structure, physicochemical properties and allergenicity of proteins from oyster (*Crassostrea gigas*). *LWT*, *166*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.113803>
- Food And Agriculture Organization (FAO). (2008). A Review on Culture, Production and Use of *Spirulina* as Food for Humans and Feeds for Domestic Animals And Fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034
- Garcia, E. S., van Leeuwen, J. J. A., Safi, C., Sijtsma, L., van den Broek, L. A. M., Eppink, M. H. M., Wijffels, R. H., & van den Berg, C. (2018). Techno-Functional Properties of Crude Extracts from the Green Microalga *Tetraselmis suecica*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *66*(29), 7831–7838. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01884>
- Ghribi, A. M., Maklouf, I., Blecker, C., Attia, H., & BESBES, S. (2015). Nutritional and Compositional Study of Desi and Kabuli Chickpea (*Cicer Arietinum* L.) Flours from Tunisian Cultivars. *Advanced in Food Technology and Nutritional Sciences - Open Journal*, *1*(2), 38–47. <https://doi.org/10.17140/AFTNSOJ-1-107>
- Gupta, A., Eral, H. B., Hatton, T. A., & Doyle, P. S. (2016). Nanoemulsions: Formation, properties and applications. In *Soft Matter* (Vol. 12, Issue 11, pp. 2826–2841). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/c5sm02958a>
- Habib, M. A. B., Parvin, M., Huntington, T. C., & Hasan, M. R. (2008). A review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular, No. 1034*, 33p. <http://www.fao.org>
- Jafari, S. M., & McClements, D. J. (2017). Nanotechnology Approaches for Increasing Nutrient Bioavailability. In *Advances in Food and Nutrition Research* (Vol. 81, pp. 1–30). Academic Press Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2016.12.008>
- Lafarga, T., Fernández-Sevilla, J. M., González-López, C., & Acién-Fernández, F. G. (2020). *Spirulina* for the food and functional food industries. In *Food Research International* (Vol. 137). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109356>
- Li, T., Yin, Z., & Wu, G. (2021). Study on heat transfer behavior and thermal breakage characteristic of the charge in ball mills. *Advances in Mechanical Engineering*, *13*(3). <https://doi.org/10.1177/1687814021994964>
- Menegotto, A. L. L., Souza, L. E. S. de, Colla, L. M., Costa, J. A. V., Sehn, E., Bittencourt, P. R. S., Moraes Flores, É. L. de, Canan, C., & Colla, E. (2019). Investigation of techno-functional and physicochemical properties of *Spirulina platensis* protein concentrate for food enrichment. *LWT*, *114*. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108267>
- Maguire, C. M., Rösslein, M., Wick, P., & Prina-Mello, A. (2018). Characterisation of particles in solution—a perspective on light scattering and comparative technologies. In *Science and Technology of Advanced Materials* (Vol. 19, Issue 1, pp. 732–745). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14686996.2018.1517587>
- Morais, M. G. de, Alvarenga, A. G. P., Vaz, B. da S., & Costa, J. A. V. (2021). Nanoencapsulation of *Spirulina* biomass by electrospraying for development of functional foods a review. *Biotechnology Research and Innovation*, *5*(2), e2021009. <https://doi.org/10.4322/biori.21050204>
- Nakib, D. M. El, Ibrahim, M. M., Mahmoud, N. S., Rahman, E. N. A. El, & Ghaly, A. E. (2019). Incorporation of *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) in Traditional Egyptian Cookies as a Source of Natural Bioactive Molecules and Functional Ingredients: Preparation and Sensory Evaluation of Nutrition Snack for School Children. *European Journal of Nutrition & Food Safety*, *372–397*. <https://doi.org/10.9734/ejnf/2019/v9i430084>
- Narsimhan, G., & Xiang, N. (2018). Role of Proteins on Formation, Drainage, and Stability of Liquid Food Foams. *Annu. Rev. Food Sci. Technol*, *9*, 45–63. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030216>
- Neri-Torres, E. E., Chanona-Pérez, J. J., Calderón, H. A., Torres-Figueroa, N., Chamorro-Cevallos, G., Calderón-Domínguez, G., & Velasco-Beidrán, H. (2016). Structural and physicochemical characterization of spirulina (*Arthrospira maxima*) nanoparticles by high-resolution electron microscopic techniques. *Microscopy and Microanalysis*, *22*(4), 887–901. <https://doi.org/10.1017/S1431927616011442>
- Parwani, L., & Singh, J. (2019). Effect of Temperature on Nutritional Values of *Spirulina*: Useful for Nutrient Sustainable Food Preparations to Combat Malnutrition. *Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences*, *89*(4), 1259–1265. <https://doi.org/10.1007/s40011-018-1033-6>
- Pereira, A. M., Lisboa, C. R., & Costa, J. A. V. (2018). High protein ingredients of microalgal origin: Obtainment and functional properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, *47*, 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2018.02.015>
- Prasedya, E. S., Frediansyah, A., Martiyasari, N. W. R., Ilhami, B. K., Abidin, A. S., Padmi, H., Fahrurrozi, Juanssilfero, A. B., Widyastuti, S., & Sunarwidhi, A. L. (2021). Effect of particle size on phytochemical composition and antioxidant properties of *Sargassum cristaefolium* ethanol extract. *Scientific Reports*, *11*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-95769-y>
- Purnama, F. N. W., Agustini, T. W., & Kurniasih, R. A. (2020). The effect of different temperature on the stability of phycocyanin on microcapsule *Spirulina platensis*. *IOP Conference Series: Earth and Environmental*

- Science*, 530(1). <https://doi.org/10.1088/1755-1315/530/1/012008>
- Raczyk, M., Polanowska, K., Kruszewski, B., Grygier, A., & Michałowska, D. (2022). Effect of Spirulina (*Arthrospira platensis*) Supplementation on Physical and Chemical Properties of Semolina (*Triticum durum*) Based Fresh Pasta. *Molecules*, 27(2). <https://doi.org/10.3390/molecules27020355>
- Ramírez-Rodrigues, M. M., Estrada-Beristain, C., Metri-Ojeda, J., Pérez-Alva, A., & Baigts-Allende, D. K. (2021). Spirulina platensis protein as sustainable ingredient for nutritional food products development. *Sustainability (Switzerland)*, 13(12). <https://doi.org/10.3390/su13126849>
- Schmidt, R., Martin Scholze, H., & Stolle, A. (2016). Temperature progression in a mixer ball mill. *International Journal of Industrial Chemistry*, 7(2), 181–186. <https://doi.org/10.1007/s40090-016-0078-8>
- Setyawan, H. Y., Safira, L., Mulyarto, A. R., Wijana, S., & Pranowo, D. (2023). The effect of pyrolysis temperature and ball-milling duration on characteristics of micro bio-char derived from oil palm empty fruit bunches. *Sustainable Environment*, 9(1). <https://doi.org/10.1080/027658511.2023.2173041>
- Srimiyati, M., Kusharto, C. M., Anwar, F., Rachmawati, H., Yunita, U., Kartini, N., & Shofiyyatunnisaak, N. A. (2022). The Effect of Nanotechnology on Nutrient Characteristic of Catfish (*Clarias gariepinus*) Flour: Ball Milling Method. In *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences* (Vol. 18, Issue SUPP12).
- Sun, C., Liu, R., Ni, K., Wu, T., Luo, X., Liang, B., & Zhang, M. (2016). Reduction of particle size based on superfine grinding: Effects on structure, rheological and gelling properties of whey protein concentrate. *Journal of Food Engineering*, 186, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2016.03.002>
- Vo, T. S., Ngo, D. H., & Kim, S. K. (2015). Nutritional and Pharmaceutical Properties of Microalgal Spirulina. In *Handbook of Marine Microalgae: Biotechnology Advances* (pp. 299–308). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800776-1.00019-4>
- Vogel, C., Scherf, K. A., & Koehler, P. (2018). Effects of thermal and mechanical treatments on the physicochemical properties of wheat flour. *European Food Research and Technology*, 244(8), 1367–1379. <https://doi.org/10.1007/s00217-018-3050-3>
- Wu, D., Wu, C., Chen, H., Wang, Z., Yu, C., & Du, M. (2018). Effect of ball mill treatment on the physicochemical properties and digestibility of protein extracts generated from scallops (*Chlamys farreri*). *International Journal of Molecular Sciences*, 19(2). <https://doi.org/10.3390/ijms19020531>
- Xu, Q., Huang, R., Yang, P., Wang, L., Xing, Y., Liu, H., Wu, L., Che, Z., & Zhang, P. (2021). Effect of different superfine grinding technologies on the physicochemical and antioxidant properties of tartary buckwheat bran powder. *RSC Advances*, 11(49), 30898–30910. <https://doi.org/10.1039/d1ra05093a>
- Zhang, W., Zhang, J., & Xia, W. (2014). Effect of ball-milling treatment on physicochemical and structural properties of chitosan. *International Journal of Food Properties*, 17(1), 26–37. <https://doi.org/10.1080/10942912.2011.608175>