



PERTUMBUHAN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DARI MIKROALGA *Porphyridium cruentum* dan *Chlorella* sp.

Monika Rafaelina, Yoswita Rustam & Sri Amini

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Jakarta (UNJ). Jl. Pemuda No. 10 Rawamangun, Jakarta Timur. 13220. Indonesia.

*Email: monicarfl64@gmail.com

ABSTRACT

Microalgae biomass contains chemical components such as vitamin, proteins, ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acid and pigments. Components with antioxidant activities can be found in only a few species of algae. The potential species of microalgae who have compounds act as antioxidant are *Porphyridium cruentum* and *Chlorella* sp. This study aimed to know the growth and antioxidant activity of *P. cruentum* and *Chlorella* sp. with the treatment of different cultures. Experimental method and completely randomized design was used as the research method. Antioxidant activity (IC50 value) was measured by DPPH method (2,2-diphenyl-1-pikrilhidrazil). SPSS 16.0 is used to analyze the data with General Linier Model (GLM) Univariate. The results of GLM Univariate test for cell density showed that there was significant different for cell density in species factors ($p=0,000$), but there was no significant different for cell density in culture factors ($p=0,375$), and GLM Univariate test for antioxidant activity showed that no significant different for antioxidant activity in species factors ($p=0,522$) but significant different for antioxidant activity in culture factors ($p=0,001$). There was significant different for growth in *P. cruentum* and *Chlorella* sp. but no significant different in indoor and outdoor culture, as well as there was no significant different antioxidant activity in two species but significant different in indoor and outdoor culture.

Keywords: growth, antioxidant activity, indoor cultivation, outdoor cultivation.

PENDAHULUAN

Mikroalga merupakan organisme mikroskopis yang diketahui memiliki kemampuan fotosintesis yang sangat efisien (Ahmad dan Ahmad, 1994). Organisme ini di alam umumnya bersifat sebagai fitoplankton yang bertindak sebagai penyusun metabolit sekunder. Mikroalga merupakan salah satu fitoplankton yang paling menarik di bidang bioteknologi kelautan karena menjadi memiliki manfaat yang begitu banyak bagi kehidupan umat manusia (El Nabris, 2012). Sebagai contoh adalah kandungan makromolekul dalam biomassa mikroalga yang telah banyak diteliti dan dimanfaatkan sebagai sumber energi alternatif (Sheehan et al., 1998), pengganti bahan bakar fosil, seperti biodiesel dari lipid (Nurachman et al., 2012) dan bioetanol (Huang et al., 2010). Menurut Abu-Rezq et al. (2010), biomassa mikroalga kaya nutrien antara lain asam lemak omega 3 dan 6, asam amino essensial (Ien, isoleusin, dan valin), karoten, klorofil, serta vitamin. Beberapa jenis mikroalga juga memiliki kandungan protein tinggi. Selain itu, mikroalga juga memiliki komponen aktif yang dimanfaatkan dalam bidang industri pangan, kosmetik, dan farmasi.

Komponen aktif fitoplankton antara lain fenol, terpenoid, sterol, flavonoid dan polisakarida. Menurut Marxen et al. (2007), komponen aktif pada biomassa mikroalga diketahui mempunyai aktivitas antioksidan. Goiris et al. (2012) mengatakan bahwa diyakini mikroalga uniseluler merupakan sumber alternatif antioksidan yang menjanjikan.

Jenis mikroalga yang potensial menghasilkan senyawa kimia yang berfungsi sebagai antioksidan adalah *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. *P. cruentum* diketahui mengandung karotenoid yaitu cis-zeaxantin, trans-zeaxantin, α -karoten, dan cis α -karoten (Abidin, 2010). Menurut Fretes et al. (2012), *Chlorella* sp. diketahui sebagai mikroalga penghasil beberapa jenis karotenoid seperti α -karoten, α -karoten, lutein, zeaxantin, anteraxantin, dan violaxantin.

Terkait dengan tingginya permintaan untuk memenuhi manfaat tersebut, maka kultivasi merupakan cara untuk memenuhi kebutuhan stok biomassa mikroalga. Proses kultivasi dipengaruhi oleh faktor lingkungan yang secara langsung akan mempengaruhi pertumbuhan dari mikroalga. Faktor-faktor lingkungan yang mempengaruhi pertumbuhan mikroalga diantaranya suhu, salinitas, dan cahaya. Suhu merupakan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap proses metabolisme dan fotosintesis. Salinitas sangat penting untuk mempertahankan tekanan osmotik antara sel dengan air sebagai lingkungan hidupnya. Peranan cahaya dalam pertumbuhan yaitu untuk proses fotosintesis dengan menyediakan energi untuk diubah menjadi energi kimia dengan bantuan klorofil. Kondisi lingkungan saat kultivasi tidak hanya berpengaruh terhadap pertumbuhan sel tetapi juga berpengaruh terhadap kestabilan dari senyawa antioksidan mikroalga. Kestabilan antioksidan yang terganggu juga akan berpengaruh terhadap aktivitas dalam mengatasi radikal bebas.

Mengingat proses kultivasi untuk mendapatkan biomassa melibatkan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan senyawa antioksidan, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui pertumbuhan sel serta aktivitas antioksidan dari mikroalga. Penelitian ini dilakukan pada jenis mikroalga *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. dengan perlakuan kultivasi yang berbeda yaitu di dalam ruangan dan di luar ruangan. Pertumbuhan mikroalga berdasarkan kepadatan sel pada setiap volume kultur dan laju pertumbuhan serta aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC50. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh kondisi kultivasi terhadap pertumbuhan kedua jenis mikroalga tersebut.

BAHAN DAN METODE

WAKTU DAN LOKASI PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada bulan Juni-Agustus 2014. Penelitian dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP), Petamburan, Slipi, Jakarta Barat.

ALAT DAN BAHAN

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini terdiri dari Pompa aerator, selang aerasi, sentrifuge, autoklaf, haemocytometer, hand counter, kuvet kaca, tabung falcon, termometer, refraktometer, mikroskop, microplate reader, wadah kultivasi, gelas kimia, kaca objek, kaca penutup, gelas ukur, pipet, timbangan analitik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi biakan murni mikroalga jenis *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. didapat dari Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan (BBP4BKP), pupuk conwy, akuades, alkohol, etanol, DPPH, asam askorbat dan larutan metanol p.a (pro analisis).

PROSEDUR PENELITIAN

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen dengan desain Rancangan Acak Lengkap. Penelitian melibatkan 2 faktorm, yaitu faktor A dan faktor B. Faktor adalah adalah mikroalga yang digunakan

P. cruentum dan *Chlorella* sp, sedangkan faktor B adalah kondisi lingkungan.

a. Pembuatan Pupuk Conwy

Medium tumbuh yang digunakan untuk ketiga jenis mikroalga menggunakan pupuk Nutrien Conwy (Walne, 1966 dalam Faria et al., 2012). Pupuk Conwy terdiri dari: larutan A yang terdiri dari bahan-bahan yaitu 100,0 g NaNO₃, 20,0 g NaHPO₄·2H₂O, 45,0 g Na-EDTA, 33,6 g H₃BO₄, 0,78 FeCl₃·6H₂O, 0,36 g MnCl₂·4H₂O, seluruh bahan dilarutkan dalam 1000 mL akuades dan larutan B terdiri dari 2,1 g ZnCl₂, 2,0 g CoCl₂·6H₂O, 0,9 g CuSO₄·5H₂O dan 0,9 g (NH₄)₂MoO₇·24H₂O, semua bahan dilarutkan dalam 100 ml akuades.

b. Kultivasi Mikroalga

Kultur murni mikroalga jenis *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. diambil dari kultur stok koleksi Laboratorium kultivasi Balai Besar Riset Pengolahan Produk dan Bioteknologi Kelautan dan Perikanan. Peralatan yang digunakan untuk kultur disterilasi dalam autoklaf selama 20 menit pada suhu 121°C untuk mencegah kontaminasi selama tahap awal pertumbuhan sebelum dilakukan kultivasi. Media yang digunakan adalah air laut steril.

Air laut disterilkan dengan cara direbus hingga mendidih. Media air laut yang sudah dingin dan steril diberikan biakan mikroalga dengan kepadatan awal 10⁵ untuk semua jenis mikroalga, kemudian ditambahkan pupuk conwy yaitu untuk larutan A sebanyak 1 ml L⁻¹ dan larutan B sebanyak 0,1 ml L⁻¹ (Amini, 1990). Wadah yang digunakan untuk kultur berukuran 10 L.

Kultur-kultur tersebut dilakukan di dalam ruangan dan di luar ruangan. Di dalam ruangan kultur dikultivasi dengan intensitas cahaya 2500 lux, suhu rata-rata 26 °C, dan salinitas 25 ppt (kondisi lingkungan terkontrol). Di luar ruangan kultur dilakukan dengan menggunakan sumber cahaya matahari dengan intensitas sekitar 6500 lux, dan salinitas 25 ppt. Seluruh unit kultivasi diaerasi menggunakan pompa aerator (Susilowati dan Amini, 2010).

c. Penghitungan Kepadatan Sel

Penghitungan kepadatan sel dilakukan dengan menghitung jumlah sel per milliliter setiap 24 jam. Kultur sel diambil dengan pipet tetes steril diteteskan pada Haemocytometer Neubauer, kemudian dihitung jumlah sel melalui mikroskop. Laju pertumbuhan sel dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Ohama dan Miyachi, 1992 dalam Amini, 2011):

$$k = \frac{\log 10 \frac{N}{N_0}}{T - T_0} \times 3.32$$

Keterangan:

N = jumlah sel pada waktu T T₀ = waktu awal (hari)
N₀ = jumlah sel awal 3,32 = nilai konstanta
T = waktu (hari)

d. Pemanenan

Biomassa mikroalga dipanen dengan metode sentrifugasi. Sampel ditempatkan pada tabung falcon dan ditimbang sebanyak 300 gr kemudian disentrifugasi pada kecepatan 4000 rpm selama 10 menit pada suhu 10 °C. Hasil sentrifugasi berupa pelet dan supernatan, selanjutnya memisahkan pelet dari supernatan, pelet berupa biomassa mikroalga dan supernatan berupa larutan yang bening. Larutan yang jernih dibuang sehingga dihasilkan biomassa mikroalga yang berupa padatan (Amini, 1990).

e. Persiapan ekstrak Mikroalga

Biomassa mikroalga di ekstraksi dengan metode maserasi. Biomassa kering direndam dalam etanol dengan perbandingan 1:5 kemudian di maserasi selama 24 jam ditempatkan dalam kondisi gelap. Filtrat yang dihasilkan dipekatkan dengan cara evaporasi menggunakan rotator evaporator selama ±30 menit (Goh, 2010). Setelah kering,

ekstrak ditimbang yang kemudian disebut ekstrak kasar etanol.

f. Pengujian Aktivitas Antioksidan secara Kuantitatif

Pengujian dilakukan dengan menggunakan microplate 96 sumur (well) menurut King Li et al. (2006). Ekstrak dibuat dengan 8 seri konsentrasi 25, 50, 100, 200, 400, dan 800 µg mL⁻¹. Ekstrak pada setiap seri konsentrasi dimasukkan ke dalam sumuran sebanyak 160 µL. Sumuran yang sudah berisi ekstrak ditambahkan larutan DPPH masing-masing 40 µL.

Larutan DPPH dibuat dengan cara melarutkan 3 mg DPPH dalam 10 ml metanol p.a. Sebagai kontrol contoh, sebanyak 160 µL ekstrak dimasukkan ke dalam sumuran lalu ditambahkan 40 µL metanol p.a. Kontrol negatif dibuat dengan cara menambahkan 160 µL metanol p.a. dengan 40 µL DPPH dan sebagai blanko digunakan 200 µL metanol p.a. Asam askorbat (vitamin C) digunakan sebagai kontrol positif dibuat menggunakan seri konsentrasi 2, 4, 6, 16 dan 32 µg mL⁻¹ serta volume yang sama dengan ekstrak yang diuji. Microplate selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 30 menit. Setelah 30 menit, absorbansi dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm. Persentase penghambatan terhadap radikal bebas DPPH dari larutan sampel ditentukan dengan rumus:

$$A\% \text{hambatan} = \frac{(A-B)-(C-D)}{(A-B)} \times 100$$

Keterangan:

A = absorbansi kontrol negatif

B = absorbansi blanko

C = absorbansi contoh

Setelah didapatkan % hambatan (y) dari masing-masing konsentrasi (x), titik-titik (x,y) diplot pada bidang koordinat kemudian ditentukan persamaan $y = ax+b$, di mana a dan b adalah konstanta, x adalah konsentrasi sampel (µg mL⁻¹), dan y adalah persentase hambatan (%). Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan Inhibitory Concentration 50 (IC₅₀) yaitu konsentrasi sampel (x) yang dapat meredam 50% radikal DPPH (y = 50) sehingga nilai IC₅₀ sama dengan nilai y = 50.

ANALISIS DATA

Uji hipotesis statistik pada penelitian ini menggunakan Analisis Varian Duah Arah atau General Linier Model (GLM) Univariate pada parameter pertumbuhan dan aktivitas antioksidan. Hasil GLM Univariate diperoleh dari analisis menggunakan software statistik SPSS 16.0. Kriteria pengujian diterima apabila nilai signifikansi (p) < 0,05 maka tolak H₀. Hasil yang disajikan menunjukkan bahwa diperoleh nilai (p) pada parameter kepadatan sel untuk faktor jenis adalah 0,000 < 0,05 maka H₀ ditolak. Hal tersebut berarti bahwa terdapat perbedaan kepadatan sel antara jenis mikroalga *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. Hasil tersebut berbanding terbalik pada faktor kultivasi (p = 0,375) maka H₀ diterima yaitu tidak terdapat perbedaan kepadatan sel antara mikroalga kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan.

HASIL

1. PERTUMBUHAN SEL MIKROALGA

a. Pertumbuhan Kepadatan Sel Mikroalga *P. cruentum* dan *Chlorella* sp.

Kepadatan sel dinyatakan dalam satuan logaritmik sel per mL (log sel mL⁻¹). Setiap sel dikultivasi dengan kepadatan awal 10⁵ sel mL⁻¹. Kepadatan sel mikroalga baik pada *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. pada setiap perlakuan mengalami peningkatan sejak inokulasi awal. Mikroalga *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. baik yang dikultivasi di dalam

ruangan maupun di luar ruangan mengalami fase eksponensial pada hari ke-2 sampai hari ke-11. Pertumbuhan dan kematian sel selanjutnya terjadi dengan seimbang sehingga jumlah sel terlihat konstan disebut dengan tahap stasioner yang dimulai pada hari ke-12 sampai ke-14.

Kultivasi kedua jenis mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan dilakukan hingga fase tetap (konstan) yaitu pada hari ke-14. Kepadatan akhir *P. cruentum* kultivasi di dalam ruangan mencapai 6,22 log sel mL⁻¹ sedangkan di luar ruangan menghasilkan sel sebanyak 6,33 log sel mL⁻¹. *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan mencapai kepadatan akhir lebih tinggi dari *P. cruentum* yaitu 6,66 log sel mL⁻¹.

b. Pengukuran Parameter Lingkungan pada Media selama Kultivasi

Pengukuran kondisi lingkungan dilakukan hal ini karena faktor lingkungan sangat penting dalam pertumbuhan sel mikroalga. Faktor-faktor yang diamati yaitu suhu dan salinitas. Mikroalga kultivasi di dalam ruangan menggunakan intensitas cahaya 2500 lux, suhu berkisar antara 25o-26oC. Salinitas yang digunakan pada media *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. yaitu 25 ppt dan media pada kedua jenis tersebut mengalami peningkatan salinitas hingga akhir kultivasi. Salinitas pada media kultur *P. cruentum* meningkat hingga 30 ppt dan pada media kultur *Chlorella* sp. meningkat hingga 28 ppt. Kultivasi di luar ruangan dilakukan dengan menggunakan sumber cahaya matahari dengan intensitas 6500 lux, suhu berkisar sekitar 26o-30oC dengan salinitas 25 ppt dan mengalami peningkatan.

2. Aktivitas Antioksidan Mikroalga P. cruentum dan Chlorella sp.

Uji aktivitas antioksidan dilakukan secara kuantitatif. Uji kuantitatif dilakukan dengan menghitung persentase inhibisi seri larutan uji. Aktivitas antioksidan diekspresikan dengan nilai IC50 yang menunjukkan bahwa konsentrasi larutan uji yang dibutuhkan untuk dapat menginhibisi 50% aktivitas radikal bebas. Pengujian dengan absorbansi peredaman radikal bebas DPPH dilakukan terhadap vitamin C, ekstrak etanol spesies *P. cruentum* kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan serta spesies *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan dibuat dengan berbagai konsentrasi. Absorbansi sampel dihitung aktivitas antioksidan dalam bentuk % inhibisi.

Vitamin C sebagai kontrol positif memiliki IC50 sebesar 7,62 µg mL⁻¹ dan ekstrak kasar etanol *P. cruentum* kultivasi di dalam ruangan sebesar 729,5 µg mL⁻¹, *P. cruentum* kultivasi di luar ruangan sebesar 1257,3 µg mL⁻¹, *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan sebesar 594,6 µg mL⁻¹, dan *Chlorella* sp. kultivasi di luar ruangan sebesar 1236,8 µg mL⁻¹. Nilai IC50 ekstrak etanol spesies *Chlorella* sp. kultivasi di dalam ruangan mempunyai nilai yang paling besar di antara semua perlakuan yaitu 594,6 µg mL⁻¹ dan spesies *P. cruentum* kultivasi di luar ruangan memiliki nilai terendah yaitu 1257,3 µg mL⁻¹ (Tabel 1).

PEMBAHASAN

1. PERTUMBUHAN SEL MIKROALGA

a. Pertumbuhan Kepadatan Sel Mikroalga P. cruentum dan Chlorella sp.

Pola pertumbuhan *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. baik kultivasi di dalam ruangan dan luar ruangan tidak menunjukkan adanya fase lag. Hal ini terjadi karena kedua spesies mikroalga tersebut diinokulasi dan diambil dari kultur inokulum pada fase eksponensial sehingga tidak mengalami fase lag. Hal ini dinyatakan oleh Spencer (dalam Fogg, 1975) bahwa lamanya fase lag tergantung dari umur inokulum, bahkan fase lag tidak terjadi bila inokulum telah mencapai fase logaritmik.

Waktu adaptasi juga dipengaruhi oleh kondisi media tumbuh. Kedua spesies mikroalga ditempatkan dalam medium dan lingkungan yang sama seperti medium dan lingkungan sebelumnya sehingga tidak diperlukan waktu

untuk adaptasi. Peningkatan kepadatan sel terjadi pada hari ke-2 hingga hari ke-11 yang disebut dengan fase eksponensial. Fase stasioner selanjutnya terjadi pada hari ke-12 hingga hari ke-14 dimana jumlah sel mulai sedikit

Tabel 1. Nilai IC50 Hasil Pengujian Aktivitas Antioksidan Penangkap Radikal DPPH

Jenis	Konsentrasi Ekstrak (µg ml-1)	Persentase hambatan (%)			IC50 (µg ml-1)			Mean
		I	II	III	I	II	III	
Porphyridium cruentum kultivasi indoor	25	5,4	10,3	3,4	691	644,3	853,2	729,5
	50	13,6	23,0	6,7				
	100	15,4	17,3	3,9				
	200	25,6	30,2	19,2				
	400	33,7	39,3	26,7				
	800	55,4	56,7	46,4				
	800	55,4	56,7	46,4				
Porphyridium cruentum kultivasi outdoor	25	5,2	0,1	0,1	854,7	1527	1390,1	1257,3
	50	3,7	0,9	1,8				
	100	4,5	2,5	6,4				
	200	10,2	6,3	9,2				
	400	24,1	9,0	10,7				
	800	47,6	27,0	30,2				
	800	47,6	27,0	30,2				
Chlorella sp kultivasi indoor	25	15,8	5,2	7,3	521,1	646,4	616,3	594,6
	50	11	6	10,6				
	100	25,5	18,7	22,3				
	200	30,5	22,5	28,2				
	400	42,5	28,5	31,3				
	800	68	61,5	62,5				
	800	68	61,5	62,5				
Chlorella sp kultivasi outdoor	25	10,1	8,9	9,4	941,4	1334,2	1433,5	1236,8
	50	14,9	11,6	12				
	100	12,3	13,4	13,4				
	200	11,7	12,4	14,4				
	400	26,8	21,2	21				
	800	44,7	33,8	32,6				
	800	44,7	33,8	32,6				
Vitamin C	2	39,2	a	a	7,62	a	a	a
	4	40,6	a	a				
	8	47,3	a	a				
	16	75,0	a	a				
	32	96,2	a	a				
	32	96,2	a	a				

mengalami peningkatan dan cenderung konstan. Kultivasi dan pemanenan mikroalga dilakukan hingga umur mikroalga mencapai fase stasioner akhir yaitu hari ke-14 hal ini bertujuan untuk mencegah mikroalga mengalami penurunan jumlah sel. Pemanenan biomassa mikroalga dilakukan pada fase stasioner dikarenakan pada fase ini terjadi metabolisme sekunder. Menurut Herbert (1995), metabolisme sekunder terjadi pada fase stasioner yang merupakan keseluruhan proses sintesis dan perombakan produk metabolit primer. Metabolit sekunder yang diproduksi selama fase stasioner yaitu senyawa terpen, alkaloid, pigmen (Manitto, 1992).

Berdasarkan hasil uji statistik dengan nilai signifikansi <0,05 diketahui bahwa terdapat perbedaan pertumbuhan antara faktor jenis yaitu *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. Pertumbuhan yang paling tinggi terjadi pada *Chlorella* sp. yaitu sebesar 6,66 log sel mL⁻¹. Hal ini dikarenakan ukuran sel pada *Chlorella* sp. lebih kecil dibandingkan dengan *P.*

cruentum sehingga mampu menyerap nutrisi lebih banyak. Menurut Garofalo (dalam Mayasari, 2012), kebutuhan nutrisi sangat berkorelasi dengan sifat morfologi dari fitoplankton. Ukuran sel masing-masing jenis dalam hal ini yaitu 3-5 µm untuk *Chlorella* sp. (Chinnasamy, 2009) dan 4-9 µm untuk *P. cruentum* (Lee, 1989).

b. Pengukuran Parameter Lingkungan pada Media selama Kultivasi

Berdasarkan faktor dari kultivasi yaitu di dalam ruangan dan di luar ruangan tidak menunjukkan adanya

Tabel 2. Hasil Uji statistik menggunakan GLM Univariate

Variabel	Faktor	Signifikansi (p)
Kepadatan sel	Jenis	0,000
	Kultivasi	0,375
Nilai IC50	Jenis	0,522
	Kultivasi	0,001

perbedaan pertumbuhan sel mikroalga. Hal ini dikarenakan kondisi lingkungan untuk pertumbuhan mikroalga *Chlorella* sp. dan *P. cruentum* merupakan kondisi yang optimal serta media yang digunakan sama. Menurut Sato (1991), suhu yang sesuai untuk kultur mikroalga di dalam ruangan berkisar antara 20-25 °C. Hal ini diperjelas oleh Thorton et al. (2010) bahwa suhu optimal untuk kultur mikroalga yaitu sekitar 20o-30oC sehingga kultivasi yang dilakukan di dalam ruangan serta di luar ruangan masih dalam kondisi yang optimal untuk pertumbuhan mikroalga.

Salinitas yang digunakan pada media kultur kedua jenis mikroalga yaitu 25 ppt. Pertumbuhan kedua jenis mikroalga optimum pada salinitas tersebut. Pengukuran salinitas selama penelitian menunjukkan adanya peningkatan yaitu mencapai 28 ppt pada media *Chlorella* sp. yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan, 30 ppt pada media *P. cruentum* yang dikultivasi di dalam ruangan dan 26 ppt pada media *P. cruentum* yang dikultivasi di luar ruangan. Menurut Rostini (2007), kenaikan salinitas kultur ini dapat terjadi karena adanya pengendapan garam dalam medium. Konsentrasi garam dalam medium meningkat akibat penguapan air laut oleh panas yang berasal dari lampu dan cahaya matahari. Hal ini diperkuat oleh Darley (dalam Yulianto, 1989) yaitu tinggi rendahnya salinitas dipengaruhi oleh adanya penguapan di suatu daerah.

Intensitas cahaya yang digunakan pada kultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan masih dalam rentang optimal untuk pertumbuhan *P. cruentum* dan *Chlorella* sp sehingga pertumbuhan mikroalga di antara kedua perlakuan kultivasi tidak berbeda. Menurut Coutteau (1996), mikroalga cocok dikulturkan pada intensitas cahaya 1000 lux, sedangkan untuk volume yang lebih besar pada intensitas 5000-10000 lux.

Kondisi cahaya mempengaruhi langsung pertumbuhan dan fotosintesis mikroalga (durasi dan intensitas) (Al-Qasmi, 2012). Menurut Hendersen-Seller (1987), cahaya yang dibutuhkan mikroalga di dalam proses fotosintesis memiliki batas dan kisaran tertentu, pada umumnya intensitas cahaya yang lebih besar lebih efektif bagi proses fotosintesis, namun pada tingkat cahaya yang sangat tinggi dapat mengurangi laju proses tersebut dan menghambat pembelahan sel. Hasil pada penelitian ini, intensitas cahaya yang digunakan dalam batas optimal sehingga pertumbuhan mikroalga baik yang dikultivasi di dalam ruangan maupun di luar ruangan tidak terhambat dan proses fotosintesis dapat berjalan dengan baik.

2. Aktivitas Antioksidan Mikroalga *P. cruentum* dan *Chlorella* sp.

Hasil uji statistik menunjukkan bahwa tidak menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antioksidan di antara kedua spesies. Hal ini kemungkinan berhubungan dengan kandungan antioksidan seperti fenolik yang terdapat pada *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. Penelitian yang dilakukan oleh Goiris et al. (2012) menunjukkan kandungan fenolik dari *Chlorella* sp. dan *P. cruentum* tidak jauh berbeda. *Chlorella vulgaris* menghasilkan kandungan fenolik sebesar 1,30 mg g⁻¹ biomassa, serta untuk *P. cruentum* menghasilkan kandungan fenolik sebesar 1,22 mg g⁻¹. Menurut Ebrahimzadeh et al. (2009), kandungan fenol yang tinggi menyebabkan aktivitas peredaman DPPH yang lebih baik.

Aktivitas penangkap radikal bebas terjadi oleh senyawa fenol karena mempunyai kemampuan mendonorkan elektron atau hidrogen sehingga menghasilkan radikal stabil yang berenergi rendah, struktur radikal baru ini menjadi stabil (Reische et al., 2002). Tidak sepenuhnya peran terhadap peredaman radikal DPPH dalam aktivitas antioksidan pada alga dipengaruhi oleh senyawa fenolik. Shahidi (2008) dalam Cox et al. (2010) mengatakan bahwa aktivitas antioksidan dari ganggang laut bisa berasal dari pigmen seperti klorofil dan karotenoid, vitamin dan prekursor vitamin termasuk α -tokoferol, α -karoten, niasin, tiamin, asam askorbat, flavonoid, terpenoid, peptida, dan zat antioksidatif lain.

Berdasarkan faktor kultivasi, hasil analisis statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan nilai aktivitas antioksidan mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan dan di luar ruangan. Hasil penelitian ini serupa dengan hasil penelitian yang dilakukan Zhan Ping Zhou (2005) yaitu aktivitas antioksidan fikosianin dari *Spirulina plantesis* meningkat 12,58% ketika dikultivasi di tempat gelap. Hal tersebut diduga karena sumber cahaya pada kultivasi di luar ruangan menggunakan cahaya matahari. Paparan sinar matahari tersebut dapat mendegradasi senyawa antioksidan pada mikroalga karena mengandung sinar UV. Menurut Chamnongpol et al. (1997), UV-B (320-290 nm) dapat merusak ikatan kovalen antaratom dan merusak DNA dengan menyebabkan oksidatif silang menghubungkan antara basa pirimidin yang berdekatan membentuk dimer pirimidin siklobutana. Cahaya UV dengan panjang gelombang pendek menyebabkan molekul terdegradasi lebih cepat. Zapsalis (dalam Widiyanti, 2009) mengatakan bahwa sifat antioksidan mudah teroksidasi dengan adanya cahaya, panas dan oksigen.

KESIMPULAN

Pertumbuhan kepadatan sel akhir tertinggi terjadi pada jenis *Chlorella* sp. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pertumbuhan antara mikroalga jenis *P. cruentum* dan *Chlorella* sp. namun tidak terdapat perbedaan pertumbuhan antara kultivasi di dalam dan di luar ruangan pada kedua jenis mikroalga. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol tertinggi pada mikroalga yang dikultivasi di dalam ruangan. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antioksidan pada ekstrak mikroalga yang dikultivasi di dalam dan di luar ruangan namun tidak terdapat perbedaan aktivitas antioksidan antara mikroalga *P. cruentum* dan *Chlorella* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, D., Rodonuwu F.S., Zinuri M. 2010. Analysis of Photosynthetic Pigments and Proximate Content At *Porphyridum cruentum*. Proceeding of Natural Pigments Conference For South East Asia. Malang. P 231-237.
- Abu-Rezq, T. S., Al-Hooti S., Jacob D., Al-Shamali M., Ahmed A., Ahmed N. 2010. Induction and extraction of α -carotene from the locally isolated *Dunaliella salina*. J. Algal Biomass Utln. (4): 58-83.
- Ahmad dan Ahmad, B. M. 1994. Ekologi air tawar. Dewan Bahasa dan Pustaka, Kuala Lumpur. P 107- 123.

- Al-Qasmi, A.M., Nitin Raut M., Sahar T., Sara Al-Rajhi., Tahir Al-Barwani. 2012. Review of Effect of Light on Microalgae Growth. Proceedings of the World Congress on Engineering Vol I WCE, July 4 - 6, London, U.K.
- Amini, S. 1990. Penelitian Budidaya Plankton Laut *Isochrysis galbana* klon Tahiti secara Berkesinambungan. Prosiding Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta. P 277-278.
- Amini, S. 2011. Kandungan Minyak Mikroalga Jenis *Tetraselmis* sp. Dan *Chlorella* sp. Berdasarkan Umur Pertumbuhannya. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur.
- Chamnonpol, S., Willekens, H., Langebartels, C., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Camp, W. 1997. Transgenic tobacco with 8 reduced catalase activity develops necrotic lesions and induces pathogenesis-related proteins under high light. *Plant J.*, 10, 491-503.
- Chinnasamy, S., Ramakrishnan B., Bhatnagar A., Das K.C. 2009. Biomass Production Potential of a Wastewater Alga *Chlorella vulgaris* ARC 1 Under Elevated Levels of CO₂ and Temperature. *International Journal of Molecular Science* 10, P 518-53.
- Coutteau, P. 1996. *Microalgae: Manual on The Production and Use of Live Food for Aquaculture*. FAO Fisheries Technical Paper 361. FAO, Rome.
- Cox, S., Abu-Ghannam, N., Gupta, S. 2010. An Assessment of the Antioxidant and Antimicrobial Activity of Six Species of Edible Irish Seaweeds. *International Food Research Journal* 17: 205-220.
- Ebrahimzadeh, M.A., Nabavi S.M., Nabavi S.F., Eslami B. 2009. Antioxidant activity of aqueous extract of *Pyrus boissieriana* fruit. *Pharmacologyonline*, 1: 1318-1323.
- El Nabris, K. 2012. Development of Cheap and Simple Culture Medium for the Microalgae *Nannochloropsis* sp. Based on Agricultural Grade Fertilizers Available in the Local Market of Gaza Strip (Palestine). *Journal of Al Azhar University-Gaza (Natural Sciences)* 14 : 61-76.
- Faria G.R., Caroline R.P.S. Paes, Dominique J.F.A. Castro, Natália A.B. Tinoco, Elisabete B., Sergio O. L. 2012. Effects of the availability of CO₂ on growth, nutrient uptake, and chemical composition of the marine microalgae *Chlorella* sp. and *Nannochloropsis oculata*, two potentially useful strains for biofuel production. *International Research Journal of Biotechnology (ISSN: 2141-5153) Volume 3(5)*, 65-75.
- Fogg, G. E. 1975. *Algal Culture and Phytoplankton Ecology*. London: The University of Wisconsin Press.
- Fretes, H., A.B. Susanto, Budhy P., Leenawaty L. 2012. Karotenoid dari Makroalga dan Mikroalga: Potensi Kesehatan Aplikasi dan Bioteknologi. *J. Teknol. Dan Industri Pangan*, Volume 23 No.2.
- Goh, Su-Hua. 2010. A Comparison of the Antioxidant Properties and Total Phenolic Content in a Diatom, *Chaetoceros* sp. and a Green Microalga, *Nannochloropsis* sp. *Journal of Agricultural Science* Volume 2, No. 3.
- Goiris, K., Koenraad M., Ise F., Imogen F., Jos De B., Luc De Cooman. 2012. Antioxidant Potential of Microalgae in Relation To Their Phenolic and Carotenoid Content. *J Appl Phycol*.
- Hendersen-Seller, B. dan Markland, H.R. 1987. *Decaying Lakes. The origins and control of cultural eutrophication*. John Wiley and Son. Chicester.
- Herbert, R.B. 1995. *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Bambang Srigandono, penerjemah. Edisi kedua. Semarang: IKIP Semarang Press. Terjemahan dari: *The Biosynthesis of Secondary Metabolites*.

- Huang, G., Chen, F., Wei, D., Zhang, X., Chen, G. 2010. Biodiesel Production by Microalgae. Biotechnology, Elsevier, Volume 87,38-46.
- Lee, E.R. 1989. Phycology, Second edition. Cambridge: Cambridge University Press.
- Manitto, P. 1992. Biosintesis Produk Alami. Koensoemardiyah, penerjemah. Semarang: IKIP Press. Terjemahan dari: Biosynthesis of Natural Products.
- Marxen, K., H. V. Klaus, L. Sebastian, H. Ralf, R. Andreas, P. H. Ulf. 2007. Full Research Paper Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. Sensors. Vol. 7 : 2080-2095.
- Mayasari, E. 2012. Efek Penambahan Fe²⁺ dan Mn²⁺ Terhadap Produktifitas α -Karoten oleh Fitoplankton *Dunaliella salina*, *Isocrysis galbana*, dan *Chlorella vulgaris*. Tesis. Program Magister Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Nurachman, Z., Hartati, Syahfitri A., Anward, E.E., Novirani G., Mangindaan, B., Gandasasmita, S., Syah, Y.M., Panggabean, L.M.G., Suantika, G. 2012. Oil productivity of the tropical marine diatom *Thalassiosira* sp. Bioresource Technology, 108, 240-244.
- Rostini, I. 2007. Kultur Fitoplankton (*Chlorella* sp. dan *Tetraselmis chunii*) pada Skala Laboratorium. Karya Ilmiah. Universitas Padjajaran Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan. Jatinangor.
- Sato, V. 1991. The Development of Phytoplankton Production System as a Support Base for Finfish Larval Rearing. Research in Proceedings Of a U.S.A-Asia Workshop Rotifer and Microalga Culture Systems, Honohulu Hawaii: 257-273.
- Sheehan, J., Dunahay, T., Benemann, J., Roessler, P. 1998. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program: Biodiesel from Algae. Laboratory NRE., US Department of Energy.
- Susilowati, R., dan S. Amini. 2010. Kultivasi Mikroalga *Botryococcus braunii* Sebagai Bahan Energi Alternatif Dengan Sistem Indoor dan Outdoor. Prosiding Forum Inovasi Teknologi Akuakultur.
- Thorton, A., Thomas W., Onno B., Bowen Z., Dick M. van der Sar., Kundan K., Maxim P., Maria R., Valeriu S., Jens R., Julia Z., Alicja S., Joanna Z., Martin van der S., Vincent T., Frits V. 2010. Modeling and optimization of algae growth.
- Widiyanti, R. 2009. Analisis kandungan senyawa fenol. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Yulianto, K. 1989. Pengaruh Penurunan Salinitas terhadap Laju Fotosintesa Algae Hijau (*Caulerpa serrulata* Forks) J. Agardh dan *Valonia Aegagropila* C. Agardh. ISBN : 979-8093
- Zhan-Ping Zhou., Lu-Ning Liu., Xiu-Lan Chen., Jin-Xia Wang., Min Chen., Yu-Zhoung Zhan., Bai-Cheng Zhou. 2005. Factors that Effect Antioxidant Activity of C-Phycocyanins from *Spirulina plantesis*. Journal of Food Biochemistry 29, 313-322.